MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · R. STREBINGER - Wien
C. L. WILSON - Belfast · M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL - Wien

1960
ERSTES HEFT
MIT 58 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 25. NOVEMBER 1959

RESEARCH LABORATORY LIBRARY
AEI (RUGBY) LTD.
RUGBY.

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1960

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint ab 1957 zu einem festen Jahresbezugspreis. Im Jahre 1960 wird ein Band von etwa 1000 Seiten Umfang zum Jahresbezugspreis von S 732.–, DM 122.–, sfr. 124.90, $ 29.–, £10/7/6 erscheinen. Der Band setzt sich aus 6 Heften zusammen, die in Abständen von etwa 2 Monaten herausgegeben werden.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editor of „Mikrochimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Prof. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: 63 96 14 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Grundsätzlich werden nur Arbeiten angenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

1960 **Inhaltsverzeichnis** 1. Heft

Seite

Gutterson, M., and **T. S. Ma.** Microtitrations of Organic Bases in Non-aqueous Solvents 1

Bailey, D., and **W. M. Dowson.** Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XIV 12

Nielsch, W., und **Lieselotte Giefer.** Beitrag zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid und N-Acetyl-D-Glucosaminyl-Isonicotinsäurehydrazid mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat 17

Segel, K.-H. Verbesserte Tüpfelreaktion für Herzglykoside 27

Shell, J. W., N. F. Witt, and **C. F. Poe.** Optical Crystallographic Properties of Some Antihistaminic Compounds 31

Kainz, G., und **H. Huber.** Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VII. Die Anomalie der Sulfonsäureamide 38

Huber, W. Papierchromatographie von Olefinen 44

Bennewitz, R. Zur Verbrennung flüssiger Substanzen nach Schöniger ... 54

Anger, V. Ein neuer mikrochemischer Nachweis von Nitrosoverbindungen 58

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · R. STREBINGER - Wien
C. L. WILSON - Belfast · M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL - Wien

1960

MIT 282 TEXTABBILDUNGEN

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1960

Digitized by the Internet Archive
in 2024

https://archive.org/details/mikrochimica-acta_1960_1

Inhaltsverzeichnis

Erstes Heft

(Abgeschlossen am 25. November 1959)

Seite

Gutterson, M., and **T. S. Ma.** Microtitrations of Organic Bases in Non-aqueous Solvents 1

Bailey, D., and **W. M. Dowson.** Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XIV 12

Nielsch, W., und **Lieselotte Giefer.** Beitrag zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid und N-Acetyl-D-Glucosaminyl-Isonicotinsäurehydrazid mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat 17

Segel, K.-H. Verbesserte Tüpfelreaktion für Herzglykoside 27

Shell, J. W., N. F. Witt, and **C. F. Poe.** Optical Crystallographic Properties of Some Antihistaminic Compounds 31

Kainz, G., und **H. Huber.** Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VII. Die Anomalie der Sulfonsäureamide 38

Huber, W. Papierchromatographie von Olefinen 44

Bennewitz, R. Zur Verbrennung flüssiger Substanzen nach Schöniger ... 54

Anger, V. Ein neuer mikrochemischer Nachweis von Nitrosoverbindungen 58

Kainz, G., und **F. Kasler.** Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VIII. Die Anomalie einiger Aminosäuren 62

Laszlovszky, J. Über die katalytische Bestimmung von Mikromengen Kobalt neben Zink 72

Machata, G. Dünnschichtchromatographie in der Toxikologie 79

Pungor, E., und **A. J. Hegedüs.** Beiträge zur flammenphotometrischen Analyse der Erdalkalimetalle 87

Jurečeк, M., J. Churáček und **V. Červinka.** Papierchromatographische Trennung und Identifizierung der Fettsäuren C_1—C_6 als 2,4-Dinitrobenzylester 102

Simon, W., und **G. H. Lyssy.** Notiz über einen Strömungsmesser für kleine Gasdurchflußmengen 113

Pungor, E., und **L. Balázs.** Grenzen der Konzentrationsmessung eines Hochfrequenztitrimeters mit einer Frequenz von etwa 130 MHz 118

Malissa, H. Beiträge zur Mikroelementaranalyse 127

Seite

Jungreis, E., and **I. Gedalia.** Ultramicro Determination of Iodine in Drinking Water on the Basis of Feigl's Catalytic Reaction 145

Mitsui, T. A New Simple Nitrometer for Dumas Nitrogen Determinations 150

Trutnovsky, H. Über eine Schnellmethode zur Stickstoffbestimmung 157

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften 160

Zweites Heft

(Abgeschlossen am 20. Januar 1960)

Mitsui, T., and **Ch. Furuki.** A Convenient Weighing Tube for Volatile Liquids in Carbon-Hydrogen and Dumas Nitrogen Microdetermination 169

Ashworth, M. R. F. The Effect of Some Organic Solvents on the Turbidimetric Analysis of Tertiary Butyl Alcohol 175

Mizukami, S., T. Ieki, and **K. Numoto.** Studies on Oxygen Determination in Organic Microanalysis. I. A Modified Purification Method of Nitrogen Gas 183

Mizukami, S., and **T. Ieki.** Studies on Oxigen Determination in Organic Microanalysis. II. On the Microanalysis of Oxygen by Decrease in the Quantity of Anhydro-Iodic Acid 188

Gysel, H., W. Padowetz und **K. Hamberger.** Die Mikro-Molekulargewichtsbestimmung gelöster Substanzen durch Dampfdruckmessung, 2. Mitt. 192

Eder, K. Über eine akustische Kontrolle des Verbrennungsprozesses bei der Stickstoffmikrobestimmung nach Dumas 197

Burck, H. C. Kolorimetrische Mikro-Kjeldahl-Methode mit direkter Neßlerisation zur routinemäßigen Stickstoffbestimmung 200

Meier, E. Eine neue Methode zur jodometrischen Bestimmung der Halogene in organischen Substanzen 204

Večeřa, M., und **L. Synek.** Ein Schnellverfahren zur Stickstoff-Mikrobestimmung in organischen Substanzen unter Verwendung von Co_3O_4 als Verbrennungskatalysator 208

Hirsjärvi, V. P., Birgit Salovius und **Maija Uosukainen.** Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen 220

Feigl, F., V. Anger und **D. Goldstein.** Nachweis primärer Halogenalkyle in der Tüpfelanalyse 231

Fromm, D., und **A. v. Oër.** Nachweis von Beryllium und emissionsspektrographischer Nachweis von Quecksilberdampf in Luft 235

Kainz, G., und **H. Huber.** Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoff-Bestimmung. IX. Die Reaktionen der Pyrrolin- und Oxazolinverbindungen mit salpetriger Säure 245

Kainz, G. Mikrobestimmung von Glykoläther verbindungen 254

Barcza, L., und **E. Schulek.** Beiträge zur Chemie des Selens und der Selenverbindungen. VI. 261

Ballczo, H., und **M. Hodos.** Sulfatnachweis in einem Tropfen unter Anwendung des Ringofens aus Glas 267

Seite

Kirsten, W. On the Use of Nitrite in the Determination of Halogen in Organic Compounds 272

Flaschenträger †, B., and Mrs. **Samiha M. Abdel Wahhab.** An Improved Method for the Isolation and Estimation of Furan-2,5-dicarboxylic Acid in Human Urin 275

White, D. C. A Note on the Micro Determination of Sulphate Using Lead Nitrate as Titrant and Dithizone as Indicator 282

Sawicki, E., J. Noe, and **T. W. Stanley.** A New Test for the Detection of Aralkyl and Dialkyl Ketones Containing the —CO—CH_2—Group 286

Ballczo, H., und **K. Peters.** Über den mikroanalytischen Nachweis mechanochemischer Reaktionen 291

Horáček, J., J. Körbl und **V. Pechanec.** Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Verbindungen. Wirksamkeit von Verbrennungskatalysatoren. II 294

Gölles, F. Zur Mikrobestimmung von Stoffgemischen mit Hilfe der kritischen Mischungstemperatur 299

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften 316

Buchbesprechung 324

Drittes Heft

(Abgeschlossen am 26. April 1960)

Antoszewski, R., and **J. S. Knypl.** A Chemichromatographic Micromethod of Determining Phosphorus 325

Fukushima, Shouzow. Mechanism and Elimination of Interferences in Flame Photometry. II 332

Püschel, R. Zur photometrischen Bestimmung von Cer mit Brenzcatechin-3,5-disulfonsaurem Natrium (Tiron) 344

Püschel, R. Über die Verwendung metallspezifischer Indikatoren bei Fällungstitrationen. VII. Eine neue direkte Schnellbestimmung von Mikrogrammengen Orthophosphat 352

Salovius, Birgit, V. P. Hirsjärvi und **Maija Uosukainen.** Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen. II 357

Hayes, O. B. Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XV 366

Buděšínský, B., und **J. Körbl.** Beitrag zur Mikroalkoxylbestimmung... 369

Pfeifer, V., und **F. Hecht.** Ein Beitrag zur Extraktion des Urans 378

Giesselmann, G., und **Ilse Hagedorn.** Mikroanalytische Bestimmung von Chlor (Brom) und Schwefel in organischen Verbindungen in einer Einwaage 390

Lassner, E., und **E. Wölfel.** Zur Bestimmung geringer Sauerstoffgehalte in hochschmelzenden Metallen durch Heißextraktion mit der Apparatur von Feichtinger 394

Seite

Schulek, E., E. Pungor, J. Trompler und **Lányi I. Konkoly Thege.** Dampfraumanalyse mehrkomponentiger Systeme. VIII. ... 405

Feigl, F., und **V. Anger.** Nachweis und Unterscheidung von Phenylschwefelsäure und Phenolsulfosäure in der Tüpfelanalyse ... 409

Mázor, L., L. Erdey und **T. Meisel.** Mikrobestimmung einiger Elemente in organischen Verbindungen nach Aufschluß mit Kalium. I. Halogenbestimmung ... 412

Mázor, L., L. Erdey und **T. Meisel.** Mikrobestimmung einiger Elemente in organischen Verbindungen nach Aufschluß mit Kalium. II. Schwefelbestimmung ... 417

Stuck, W. Eine Mikromethode zur schnellen Bestimmung von Kohlenstoff in organischen Substanzen ... 421

Gölles, F. Zur kritischen Lösungstemperatur einiger Systeme mit zweibasischen organischen Säuren ... 429

Fukuda, Minoru. Microdetermination of Alkoxyl Groups by a New Combustion Method ... 448

Avni, R., and **C. Th. J. Alkemade.** The Rôle of Some Organic Solvents in Flame Photometry ... 460

Eder, K. Über eine einfache Ausführung des Schöniger-Kolbens ... 471

Lacourt, A., and **P. Heyndryckx.** Spectrophotometrical Stability of Metal Oxinates on Filter Paper ... 473

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften ... 475

Buchbesprechungen ... 483

Viertes Heft

(Abgeschlossen am 12. Juli 1960)

Schulek, E., und **J. Laszlovszky.** Zur Frage der Zerstörung und Anreicherung in der Mikroanalyse ... 485

Witmer, F. J., and **J. H. Austin.** A New Spectrophotometric Method for the Micro Determination of Sulfuric Acid Esters in Sulfatide Fractions 502

Sawicki, E., and **T. W. Stanley.** Sensitive New Test for Aliphatic, Aromatic, and Heterocyclic Aldehydes ... 510

Pfeifer, V. Über die Extrahierbarkeit des Wolfram(VI)-rhodanids ... 518

Hirsjärvi, V. P., Birgit Salovius und **Maija Uosukainen.** Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen. III ... 534

Pietsch, R. Metallfällungen mit aliphatischen Arsonsäuren ... 539

Bark, L. S., and **R. Catterall.** New Reagents for the Colorimetric Determination of Microgram Quantities of Nitrite ... 553

Gore, T. S., and **A. S. Kulkarni.** Microdetermination of Nitrogen by Dumas Method ... 559

Pećar, M. Zur komplexometrischen Bestimmung des Kaliums ... 567

Seite

Bril, J., et **E. Pruvot.** La Micro-Détermination du Béryllium par la fluorimétrie du complexe Morin-Be 577

Meier, E., und **Nathalia Shaltiel.** Bestimmung von Selen in organischen Substanzen 580

Weisz, H., and **P. W. West.** Localization of Spot Test Colors by Use of the Ring Oven 584

Kraljić, I. Die Zersetzung des Hexacyanoferrates(II) in der Analyse. III 586

Anger, V., und **G. Fischer.** Eine neue Tüpfelreaktion auf Aldehyde ... 592

Gölles, F. Die Mikrobestimmung der chlorsubstituierten Essigsäuren... 597

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften..... 607

Buchbesprechungen 621

Fünftes und sechstes Heft

(Abgeschlossen am 14. September 1960)

Friedrich Emich
zur 100. Wiederkehr seines Geburtstages

Benedetti-Pichler, A. A. Zum 5. September 1960 625

Duval, C. A l'aube de la micro-analyse 630

Gutbier, G., und **M. Boëtius.** Ultramikrobestimmung des Stickstoffs in organischen Verbindungen mit Einwaagen von höchstens 0,5 mg ... 636

Pohl, F. A., und **W. Bonsels.** Zur Spurenanalyse sehr reinen Siliciums... 641

Hahn, F. L. Benennungsprobleme in der Mikrochemie und ein Versuch, sie zu lösen 650

Benedetti-Pichler, A. A. To the Suggestions of Dr. F. L. Hahn 660

Roth, H. Bestimmung kleinster Mengen Stickstoff in organischem Material 663

Püschel, R., und **H. Wittmann.** Maßanalytische Schnellmikromethode zur Bestimmung von Phosphor in organischen Substanzen 670

Hahn, F. L. Eisenprobe durch automatische Anreicherung an einer kleinen Reagensfläche 675

Pungor, E., und **L. Balázs.** Acidimetrische und jodometrische Bestimmungen mit dem Hochfrequenz-Titrimeter 678

Earley, J. V., and **T. S. Ma.** Titanous Chloride as a Reagent for Quantitative Organic Micro Analysis. II. Microdetermination of Azo and Diazonium Compounds and of Nitro Arylhydrazines 685

Niederl, J. B., and **J. A. Sozzi.** Emich's Contribution to Quantitative Organic Elementary Microanalysis..... 693

Seite

Budĕšínský, B., und **J. Körbl.** Bestimmung der Acetale, Ketale und Vinyläther ... 697

Weisz, H. Eine Farbreaktion für Fluorion ... 703

Ćelap, M. B., und **H. Weisz.** Anwendung der Ringofentüpfelkolorimetrie mit Hilfe einer Silbersulfid-Standardskala in der anorganischen Papierchromatographie ... 706

Schulek, E., und **L. Pataki.** Beiträge zur Chemie des Thalliums und Arsens ... 713

Jasim, F., R. J. Magee, and **C. L. Wilson.** Chemical Analysis on the Microgram Scale. VI. The Ultramicrogravimetric Determination of Technetium and Rhenium ... 721

Mika, J., und **B. Szopory.** Über das „Vergrößerungsverfahren" bei kolorimetrischen Ultramikrotitrationen mit lichtelektrischer Endpunktsbestimmung ... 729

Holasek, A., H. Lieb und **M. Pećar.** Die komplexometrische Bestimmung des Kaliums neben Ammonium ... 750

Schwarz-Bergkampf, E. Ionentrennungen in Auflösungs- und Fällungszonen auf Filtrierpapierstreifen ... 755

Gamsjäger, H. Beitrag zum Nachweis des Kohlensulfoxyds ... 758

Leithe, W. Die oxydimetrische Bestimmung kleiner Mengen Nitrat in Natriumnitrit ... 762

Prodinger, W. Über die Uranylverbindungen des Natrium-cyklohexyldithiocarbaminats ... 766

Ackermann, G. Die Verwendung des Ringofens in der Spurenanalyse ... 771

Dirscherl, A., und **F. Erne.** Anwendung der Kolbenverbrennung auf die Mikrobestimmung des Phosphors in organischen Substanzen ... 775

Spitzy, H. Die extraktive radiometrische Titration ... 789

Bishop, E. Differential Electrolytic Potentiometry. IV. Application to Micro Coulometric Titrimetry ... 803

Feigl, F., und **J. R. Amaral.** Vorprüfungen auf Wasser und Ammoniak abspaltende organische Verbindungen in der Tüpfelanalyse ... 816

Feigl, F., J. R. Amaral und **D. Haguenauer-Castro.** Ein katalytischer Tüpfelnachweis von Äther ... 821

Anger, V. Eine neue Tüpfelreaktion auf verschiedene Nitrobenzolderivate 827

Mahon, J., and **A. A. Benedetti-Pichler.** Ion Separation on a Thread ... 831

Brandstätter-Kuhnert, M., und **J. Obkircher.** Zur Frage der Gehaltsbestimmung von Dreistoffgemischen durch thermomikroskopische Methoden ... 836

Lévy, R., et **B. Cousin.** Sur le microdosage de l'azote d'après le principe de Dumas ... 854

Harmelin, Mireille, et **C. Duval.** Étude physico-chimique de la structure de l'alun de chrome ... 863

Seite

Schönfeld, T., M. ElGarhy, Christina Friedmann und **J. Veselsky.** Ausführung und Probleme der fluorimetrischen Uranbestimmung 883

Berisso, B. Diferenciación de Algunas Diazinas 898

Baró Graf, J. C. Los Complejos Pirimidinicos en Microquimica. Una Nueva Reacción para el Cadmio 902

Kofler, A. Beitrag zur Polymorphie organischer Verbindungen 904

Burriel-Martí, F., et **R. Gallego Andreu.** Microdétermination du zinc par chromatographie-colorimétrie 912

Kainz, G., und **H. Horwatitsch.** Über die Bildung aktivierter Komplexe an der Oxydationsschicht bei der Elementaranalyse 917

Stephen, W. I. Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XVI 927

Brandenstein, M., I. Janda und **E. Schroll.** Emissionsspektrographische Methode zur Bestimmung geringster Borgehalte in Reaktorgraphiten.. 935

Wiesenberger, E. Die Anwendung der Pikrolonsäure zum Nachweis von Kupferspuren mit dem Elektronenmikroskop 946

Wenger, P.-E., I. Kapétanidis et **W. v. Janstein.** Electrophorèse sur papier des cations minéraux en présence d'agents complexants.... 961

Pierce, A., R. Loesch, and **F. Schneider.** Determination of the Solubility of Organic Compounds. II 967

Patrick, J., and **F. Schneider.** Sodium Dispersions in Elementary Analysis 970

Ballczo, H. Eine neue Methode zur Bestimmung kleinster Bleigehalte in urgeschichtlichen Legierungen 973

Kirsten, W. J., und **S. K. Nilsson.** On the Reactions of a Few Functional Groups With Hydriodic Acid Reagents 983

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften 993

Buchbesprechungen 997

Sachregister — Subject Index — Table des matières 1003

Autorenverzeichnis

Abdel Wahhab, S. M. siehe *Flaschenträger, B.* S. 275.

Ackermann, G. Die Verwendung des Ringofens in der Spurenanalyse. S. 771.

Alkemade, C. Th. J. siehe *Avni, R.* S. 460.

Amaral, J. R. siehe *Feigl, F.* S. 816, 821.

Andreu, R. G. siehe *Burriel-Martí, F.* S. 912.

Anger, V. Ein neuer mikrochemischer Nachweis von Nitrosoverbindungen. S. 58.

Anger, V. Eine neue Tüpfelreaktion auf verschiedene Nitrobenzolderivate. S. 827.

Anger, V. und *Fischer, G.* Eine neue Tüpfelreaktion auf Aldehyde. S. 592.

Anger, V. siehe *Feigl, F.* S. 231, 409.

Antoszewski, R. and *Knypl, J. S.* A Chemichromatographic Micromethod of Determining Phosphorus. S. 325.

Ashworth, M. R. F. The Effect of Some Organic Solvents on the Turbidimetric Analysis of Tertiary Butyl Alcohol. S. 175.

Austin, J. H. siehe *Witmer, F. J.* S. 502.

Avni, R. and *Alkemade, C. Th. J.* The Rôle of Some Organic Solvents in Flame Photometry. S. 460.

Bailey, D. and *Dowson, W. M.* Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XIV. S. 12.

Balázs, L. siehe *Pungor, E.* S. 118, 678.

Ballczo, H. Eine neue Methode zur Bestimmung kleinster Bleigehalte in urgeschichtlichen Legierungen. S. 973.

Ballczo, H. und *Hodos, M.* Sulfatnachweis in einem Tropfen unter Anwendung des Ringofens aus Glas. S. 267.

Ballczo, H. und *Peters, K.* Über den mikroanalytischen Nachweis mechanochemischer Reaktionen. S. 291.

Barcza, L. und *Schulek, E.* Beiträge zur Chemie des Selens und der Selenverbindungen. VI. S. 261.

Bark, L. S. and *Catterall, R.* New Reagents for the Colorimetric Determination of Microgram Quantities of Nitrite. S. 553.

Baró-Graf, J. C. Los Complejos Pirimidínicos en Microquímica. Una Nueva Reacción para el Cadmio. S. 902.

Benedetti-Pichler, A. A. To the Suggestions of Dr. F. L. Hahn. S. 660.

Benedetti-Pichler, A. A. Zum 5. September 1960. S. 625.

Benedetti-Pichler, A. A. siehe *Mahon, J.* S. 831.

Bennewitz, R. Zur Verbrennung flüssiger Substanzen nach Schöniger. S. 54.

Berisso, B. Diferenciación de Algunas Diazinas. S. 898.

Bishop, E. Differential Electrolytic Potentiometry. IV. Application to Micro Coulometric Titrimetry. S. 803.

Boëtius, M. siehe *Gutbier, G.* S. 636.
Bonsels, W. siehe *Pohl, F. A.* S. 641.
Brandenstein, M., Janda, I. und *Schroll, E.* Emissionsspektrographische Methode zur Bestimmung geringster Borgehalte in Reaktorgraphiten. S. 935.
Brandstätter-Kuhnert, M. und *Obkircher, J.* Zur Frage der Gehaltsbestimmung von Dreistoffgemischen durch thermomikroskopische Methoden. S. 836.
Bril, J. et *Pruvot, E.* La Micro-Détermination du Béryllium par la fluorimétrie du complexe Morin-Be. S. 577.
Buděšinský, B. und *Körbl, J.* Beitrag zur Mikroalkoxylbestimmung. S. 369.
Buděšinský, B. und *Körbl, J.* Bestimmung der Acetale, Ketale und Vinyläther. S. 697.
Burck, H. C. Kolorimetrische Mikro-Kjeldahl-Methode mit direkter Neßlerisation zur routinemäßigen Stickstoffbestimmung. S. 200.
Burriel-Martí, F. et *Andreu, R. G.* Microdétermination du zinc par chromatographie-colorimétrie. S. 912.

Catterall, R. siehe *Bark, L. S.* S. 553.
Ćelap, M. B. und *Weisz, H.* Anwendung der Ringofentüpfelkolorimetrie mit Hilfe einer Silbersulfid-Standardskala in der anorganischen Papierchromatographie. S. 706.
Červinka, V. siehe *Jureček, M.* S. 102.
Churáček, J. siehe *Jureček, M.* S. 102.
Cousin, B. siehe *Lévy, R.* S. 854.

Dirscherl, A. und *Erne, F.* Anwendung der Kolbenverbrennung auf die Mikrobestimmung des Phosphors in organischen Substanzen. S. 775.
Dowson, W. M. siehe *Bailey, D.* S. 12.
Duval, C. A l'aube de la micro-analyse. S. 630.
Duval, C. siehe *Harmelin, M.* S. 863.

Earley, J. V. and *Ma, T. S.* Titaneous Chloride as a Reagent for Quantitative Organic Micro Analysis. II. Microdetermination of Azo and Diazonium Compounds and of Nitro Arylhydrazines. S. 685.
Eder, K. Über eine akustische Kontrolle des Verbrennungsprozesses bei der Stickstoffmikrobestimmung nach Dumas. S. 197.
Eder, K. Über eine einfache Ausführung des Schöninger-Kolbens. S. 471.
ElGarhy, M. siehe *Schönfeld, T.* S. 883.
Erdey, L. siehe *Mázor, L.* S. 412, 417.
Erne, F. siehe *Dirscherl, A.* S. 775.

Feigl, F. und *Amaral, J. R.* Vorprüfungen auf Wasser und Ammoniak abspaltende organische Verbindungen in der Tüpfelanalyse. S. 816.
Feigl, F., Amaral, J. R. und *Haguenauer-Castro, D.* Ein katalytischer Tüpfelnachweis von Äther. S. 821.
Feigl, F. und *Anger, V.* Nachweis und Unterscheidung von Phenylschwefelsäure und Phenolsulfosäure in der Tüpfelanalyse. S. 409.
Feigl, F., Anger, V. und *Goldstein, D.* Nachweis primärer Halogenalkyle in der Tüpfelanalyse. S. 231.
Fischer, G. siehe *Anger, V.* S. 592.
Flaschenträger, B. and Mrs. *Abdel Wahhab, S. M.* An Improved Method for the Isolation and Estimation of Furan-2,5-dicarboxylic Acid in Human Urin. S. 275.
Friedmann, Ch. siehe *Schönfeld, T.* S. 883.
Fromm, D. und *Oër, A. v.*, Nachweis von Beryllium und emissionsspektrographischer Nachweis von Quecksilberdampf in Luft. S. 235.
Fukuda, M. Microdetermination of Alkoxyl Groups by a New Combustion Method. S. 448.
Fukushima, Sh. Mechanism and Elimination of Interferences in Flame Photometry. II. S. 332.
Furuki, Ch. siehe *Mitsui, T.* S. 169.

Gamsjäger, H. Beitrag zum Nachweis des Kohlensulfoxyds. S. 758.
Gedalia, I. siehe *Jungreis, E.* S. 145.
Giefer, L. siehe *Nielsch, W.* S. 17.
Giesselmann, G. und *Hagedorn, I.* Mikroanalytische Bestimmung von Chlor (Brom) und Schwefel in organischen Verbindungen in einer Einwaage. S. 390.
Gölles, F. Die Mikrobestimmung der chlorsubstituierten Essigsäuren, S. 597.
Gölles, F. Zur kritischen Lösungstemperatur einiger Systeme mit zweibasischen organischen Säuren. S. 429.
Gölles, F. Zur Mikrobestimmung von Stoffgemischen mit Hilfe der kritischen Mischungstemperatur. S. 299.
Goldstein, D. siehe *Feigl, F.* S. 231.
Gore, T. S. and *Kulkarni, A. S.* Microdetermination of Nitrogen by Dumas Method. S. 559.
Gutbier, G. und *Boëtius, M.* Ultramikrobestimmung des Stickstoffs in organischen Verbindungen mit Einwaagen von höchstens 0,5 mg. S. 636.
Gutterson, M. and *Ma, T. S.* Microtitrations of Organic Bases in Nonaqueous Solvents. S. 1.
Gysel, H., Padowetz, W. und *Hamberger, K.* Die Mikro-Molekulargewichtsbestimmung gelöster Substanzen durch Dampfdruckmessung. 2. Mitt. S. 192.

Hagedorn, I. siehe *Giesselmann, G.* S. 390.
Haguenauer-Castro, D. siehe *Feigl, F.* S. 821.
Hahn, F. L. Benennungsprobleme in der Mikrochemie und ein Versuch, sie zu lösen. S. 650.
Hahn, F. L. Eisenprobe durch automatische Anreicherung an einer kleinen Reagensfläche. S. 675.
Hamberger, K. siehe *Gysel, H.* S. 192.
Harmelin, M. et *Duval, C.* Étude physico-chimique de la structure de l'alun de chrome. S. 863.
Hayes, O. B. Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XV. S. 366.
Hecht, F. siehe *Pfeifer, V.* S. 378.
Hegedüs, A. J. siehe *Pungor, E.* S. 87.
Heyndryckx, P. siehe *Lacourt, A.* S. 473.
Hirsjärvi, V. P., Salovius, B. und *Uosukainen, M.* Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen. S. 220.
Hirsjärvi, V. P., Salovius, B. und *Uosukainen, M.* Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen. III. S. 534.
Hirsjärvi, V. P. siehe *Salovius, B.* S. 357.
Hodos, M. siehe *Ballczo, H.* S. 267.
Holasek, A., Lieb, H. und *Pećar, M.* Die komplexometrische Bestimmung des Kaliums neben Ammonium. S. 750.
Horáček, J., Körbl, J. und *Pechanec V.* Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Verbindungen. Wirksamkeit von Verbrennungskatalysatoren. II. S. 294.
Horwatitsch, H. siehe *Kainz, G.* S. 917.
Huber, H. siehe *Kainz, G.* S. 38, 245.
Huber, W. Papierchromatographie von Olefinen. S. 44.

Ieki, T. siehe *Mizukami, S.* S. 183, 188.

Janda, I. siehe *Brandenstein, M.* S. 935.
Janstein, W. v. siehe *Wenger, P.-E.* S. 961.
Jasim, F., Magee, R. J. and *Wilson, C. L.* Chemical Analysis on the Microgram Scale. VI. The Ultramicrogravimetric Determination of Technetium and Rhenium. S. 721.
Jungreis, E. and *Gedalia, I.* Ultramicro Determination of Iodine in Drinking Water on the Basis of Feigl's Catalytic Reaction. S. 145.
Jureček, M., Churáček, J. und *Červinka, V.* Papierchromatographische Trennung und Identifizierung der Fettsäuren C_1—C_6 als 2,4-Dinitrobenzylester. S. 102.

Kainz, G. Mikrobestimmung von Glykoläther-verbindungen. S. 254.
Kainz, G. und *Horwatitsch, H.* Über die Bildung aktivierter Komplexe an der Oxydationsschicht bei der Elementaranalyse. S. 917.
Kainz, G. und *Huber, H.* Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VII. Die Anomalie der Sulfonsäureamide. S. 38.
Kainz, G. und *Huber, H.* Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. IX. Die Reaktionen der Pyrrolin- und Oxazolinverbindungen mit salpetriger Säure. S. 245.
Kainz, G. und *Kasler, F.* Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VIII. Die Anomalie einiger Aminosäuren. S. 62.
Kapétanidis, I. siehe *Wenger, P.-E.* S. 961.
Kasler, F. siehe *Kainz, G.* S. 62.
Kirsten, W. J. and *Nilsson, S. K.* On the Reactions of a Few Functional Groups With Hydriodic Acid Reagents. S. 983.
Knypl, J. S. siehe *Antoszewski, R.* S. 325.
Körbl, J. siehe *Buděšínský, B.* S. 369, 697.
Körbl, J. siehe *Horáček, J.* S. 294.
Kofler, A. Beitrag zur Polymorphie organischer Verbindungen. S. 904.
Konkoly-Thege, L. I. siehe *Schulek, E.* S. 405.
Kraljič, I. Die Zersetzung des Hexacyanoferrates(II) in der Analyse. III. S. 586.
Kulkarni, A. S. siehe *Gore, T. S.* S. 559.

Lacourt, A. and *Heyndryckx, P.* Spectrophotometrical Stability of Metal Oxinates on Filter Paper. S. 473.
Lassner, E. und *Wölfel, E.* Zur Bestimmung geringer Sauerstoffgehalte in hochschmelzenden Metallen durch Heißextraktion mit der Apparatur von Feichtinger. S. 394.
Laszlovszky, J. Über die katalytische Bestimmung von Mikromengen Kobalt neben Zink. S. 72.
Laszlovszky, J. siehe *Schulek, E.* S. 485.
Leithe, W. Die oxydimetrische Bestimmung kleiner Mengen Nitrat in Natriumnitrit. S. 762.
Lévy, R. et *Cousin, B.* Sur le microdosage de l'azote d'après le principe de Dumas. S. 854.
Lieb, H. siehe *Holasek, A.* S. 750.
Loesch, R. siehe *Pierce, A.* S. 967.
Lyssy, G. H. siehe *Simon, W.* S. 113.

Ma, T. S. siehe *Earley, J. V.* S. 685.
Ma, T. S. siehe *Gutterson, M.* S. 1.
Machata, G. Dünnschichtchromatographie in der Toxikologie. S. 79.
Magee, R. J. siehe *Jasim, F.* S. 721.
Mahon, J. and *Benedetti-Pichler, A. A.* Ion Separation on a Thread. S. 831.
Malissa, H. Beiträge zur Mikroelementaranalyse. S. 127.
Mázor, L., Erdey, L. und *Meisel, T.* Mikrobestimmung einiger Elemente in organischen Verbindungen nach Aufschluß mit Kalium. I. Halogenbestimmung. S. 412.
Mázor, L., Erdey, L. und *Meisel, T.* Mikrobestimmung einiger Elemente in organischen Verbindungen nach Aufschluß mit Kalium. II. Schwefelbestimmung. S. 417.
Meier, E. Eine neue Methode zur jodometrischen Bestimmung der Halogene in organischen Substanzen. S. 204.
Meier, E. und *Shaltiel, N.* Bestimmung von Selen in organischen Substanzen. S. 580.
Meisel, T. siehe *Mázor, L.* S. 412, 417.
Mika, J. und *Szopory, B.* Über das „Vergrößerungsverfahren" bei kolorimetrischen Ultramikrotitrationen mit lichtelektrischer Endpunktsbestimmung. S. 729.
Mitsui, T. A New Simple Nitrometer for Dumas Nitrogen Determinations. S. 150.
Mitsui, T. and *Furuki, Ch.* A Convenient Weighing Tube for Volatile

Liquids in Carbon-Hydrogen and Dumas Nitrogen Microdetermination. S. 169.
Mizukami, S. and *Ieki, T.* Studies on Oxygen Determination in Organic Microanalysis. II. On the Microanalysis of Oxygen by Decrease in the Quantity of Anhydro-Iodic Acid. S. 188.
Mizukami, S., Ieki, T., and *Numoto, K.* Studies on Oxygen Determination in Organic Microanalysis. I. A Modified Purification Method of Nitrogen Gas. S. 183.

Niederl, J. B. and *Sozzi, J. A.* Emich's Contribution to Qualitative Organic Elementary Microanalysis. S. 693.
Nielsch, W. und *Giefer, L.* Beitrag zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid und N-Acetyl-D-Glucosaminyl-Isonicotinsäurehydrazid mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat. S. 17.
Nilsson, S. K. siehe *Kirsten, W. J.* S. 983.
Noe, J. siehe *Sawicki, E.* S. 286.
Numoto, K. siehe *Mizukami, S.* S. 183.

Obkircher, J. siehe *Brandstätter-Kuhnert, M.* S. 836.
Oër, A. v. siehe *Fromm, D.* S. 235.

Padowetz, W. siehe *Gysel, H.* S. 192.
Pataki, L. siehe *Schulek, E.* S. 713.
Patrick, J. and *Schneider, F.* Sodium Dispersions in Elementary Analysis. S. 970.
Pećar, M. Zur komplexometrischen Bestimmung des Kaliums. S. 567.
Pećar, M. siehe *Holasek, A.* S. 750.
Pechanec, V. siehe *Horáček, J.* S. 294.
Peters, K. siehe *Ballczo, H.* S. 291.
Pfeifer, V. Über die Extrahierbarkeit des Wolfram(VI)-rhodanids. S. 518.
Pfeifer, V. und *Hecht, F.* Ein Beitrag zur Extraktion des Urans. S. 378.
Pierce, A., Loesch, R., and *Schneider, F.* Determination of the Solubility of Organic Compounds. II. S. 967.
Pietsch, R. Metallfällungen mit aliphatischen Arsonsäuren. S. 539.
Poe, C. F. siehe *Shell, J. W.* S. 31.
Pohl, F. A. und *Bonsels, W.* Zur Spurenanalyse sehr reinen Siliciums. S. 641.
Prodinger, W. Über die Uranylverbindungen des Natriumcyklohexyldithiocarbaminats. S. 766.
Pruvot, E. siehe *Bril, J.* S. 577.
Püschel, R. Über die Verwendung metallspezifischer Indikatoren bei Fällungstitrationen. VII. Eine neue direkte Schnellbestimmung von Mikrogrammengen Orthophosphat. S. 352.
Püschel, R. Zur photometrischen Bestimmung von Cer mit Brenzcatechin-3,5-disulfonsaurem Natrium (Tiron). S. 344.
Püschel, R. und *Wittmann, H.* Maßanalytische Schnellmikromethode zur Bestimmung von Phosphor in organischen Substanzen. S. 670.
Pungor, E. und *Balázs, L.* Grenzen der Konzentrationsmessung eines Hochfrequenztitrimeters mit einer Frequenz von etwa 130 MHz. S. 118.
Pungor, E. und *Balázs, L.* Acidimetrische und jodometrische Bestimmungen mit dem Hochfrequenztitrimeter. S. 678.
Pungor, E. und *Hegedüs, A. J.* Beiträge zur flammenphotometrischen Analyse der Erdalkalimetalle. S. 87.
Pungor, E. siehe *Schulek, E.* S. 405.

Roth, H. Bestimmung kleinster Mengen Stickstoff in organischem Material. Entfernen von Spuren Stickstoff aus Reagenzien und ihr Fernhalten während der Analyse. S. 663.

Salovius, B., Hirsjärvi, V. P. und *Uosukainen, M.* Über die maßanalytische Bestimmung kleiner Eisenmengen. II. S. 357.
Salovius, B. siehe *Hirsiärvi, V. P.* S. 220, 534.
Sawicki, E., Noe, J., and *Stanley, T. W.* A New Test for the Detection of Aralkyl and Dialkyl Ketones Containing the —CO—CH_2-Group. S. 286.

Sawicki, E. and *Stanley, T. W.* Sensitive New Test for Aliphatic, Aromatic, and Heterocyclic Aldehydes. S. 510.
Schneider, F. siehe *Patrick, J.* S. 970.
Schneider, F. siehe *Pierce, A.* S. 967.
Schönfeld, T., ElGarhy, M., Friedmann, Ch. und *Veselsky, J.* Ausführung und Probleme der fluorimetrischen Uranbestimmung. S. 883.
Schroll, E. siehe *Brandenstein, M.* S. 935.
Schulek, E. siehe *Barcza, L.* S. 261.
Schulek, E. und *Laszlovsky, J.* Zur Frage der Zerstörung und Anreicherung in der Mikroanalyse. S. 485.
Schulek, E. und *Pataki, L.* Beiträge zur Chemie des Thalliums und Arsens. S. 713.
Schulek, E., Pungor, E., Trompler, J. und *Konkoly Thege, L. I.* Dampfraumanalyse mehrkomponentiger Systeme. VIII. S. 405.
Schwarz-Bergkampf, E. Ionentrennungen in Auflösungs- und Fällungszonen auf Filtrierpapierstreifen. S. 755.
Segel, K.-H. Verbesserte Tüpfelreaktion für Herzglykoside. S. 27.
Shaltiel, N. siehe *Meier, E.* S. 580.
Shell, J. W., Witt, N. F., and *Poe, C. F.* Optical Crystallographic Properties of Some Antihistaminic Compounds. S. 31.
Simon, W. und *Lyssy, G. H.* Notiz über einen Strömungsmesser für kleine Gasdurchflußmengen. S. 113.
Sozzi, J. A. siehe *Niederl, J. B.* S. 693.
Spitzy, H. Die extraktive radiometrische Titration. S. 789.
Stanley, T. W. siehe *Sawicki, E.* S. 286, 510.
Stephen, W. I. Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XVI. The Use of a Solution of Hydrogen Sulphide in Acetone for the Precipitation of the Copper-Tin Group Metals. S. 927.
Stuck, W. Eine Mikromethode zur schnellen Bestimmung von Kohlenstoff in organischen Substanzen. S. 421.
Synek, L. siehe *Večeřa, M.* S. 208.
Szopory, B. siehe *Mika, J.* S. 729.

Trompler, J. siehe *Schulek, E.* S. 405.
Trutnovsky, H. Über eine Schnellmethode zur Stickstoffbestimmung. S. 157.

Uosukainen, M. siehe *Hirsjärvi, V. P.* S. 220, 534.
Uosukainen, M. siehe *Salovius, B.* S. 357.

Večeřa, M. und *Synek, L.* Ein Schnellverfahren zur Stickstoff-Mikrobestimmung in organischen Substanzen unter Verwendung von Co_3O_4 als Verbrennungskatalysator. S. 208.
Veselsky, J. siehe *Schönfeld, T.* S. 883.

Weisz, H. Eine Farbreaktion für Fluorion. S. 703.
Weisz, H. siehe *Ćelap, M. B.* S. 706.
Weisz, H. and *West, P. W.* Localization of Spot Test Colors by Use of the Ring Oven. S. 584.
Wenger, P.-E., Kapétanidis, I. et *Janstein, W. v.* Electrophorèse sur papier des cations minéraux en présence d'agents complexants. S. 961.
West, P. W. siehe *Weisz, H.* S. 584.
White, D. C. A Note on the Micro Determination of Sulphate Using Lead Nitrate as Titrant and Dithizone as Indicator. S. 282.
Wiesenberger, E. Die Anwendung der Pikrolonsäure zum Nachweis von Kupferspuren mit dem Elektronenmikroskop. S. 946.
Wilson, C. L. siehe *Jasim, F.* S. 721.
Witmer, F. J. and *Austin, J. H.* A New Spectrophotometric Method for the Micro Determination of Sulfuric Acid Esters in Sulfatide Fractions. S. 502.
Witt, N. F. siehe *Shell, J. W.* S. 31.
Wittmann, H. siehe *Püschel, R.* S. 670.
Wölfel, E. siehe *Lassner, E.* S. 394.

Contribution from the Department of Chemistry, Brooklyn College of New York City, Brooklyn 10, N. Y.

Microtitrations of Organic Bases in Nonaqueous Solvents

By

Milton Gutterson* and **T. S. Ma**

With 1 Figure

(Received December 8, 1958)

Although it had been recognized for many years that neutralization reactions can occur in nonaqueous solvents, the work of *Conant* and *Hall*[1,2] on titrations in acetic acid probably ushered in the widespread use of acid-base titrations in nonaqueous solvents. *Riddick*[3] has reviewed this subject in a comprehensive manner giving the historical and theoretical background in addition to applications.

This study deals with the microtitration of organic bases with 0.01 *N* perchloric acid and the development of methods which are simple and use readily available equipment and materials. Solvent systems containing formic acid, acetic acid, propionic acid, or acetic anhydride, were investigated. End points were located both potentiometrically and visually.

Reagents and Solutions

Titrants

0.01 *N* perchloric acid in dioxane: 0.85 ml of 72% perchloric acid, C. P. grade, dissolved in dioxane and diluted to 1 liter.

0.1 *N* perchloric acid in acetic acid: 8.5 ml perchloric acid dissolved in acetic acid and diluted to 1 liter. The 0.05, 0.02, and 0.01 *N* solutions were prepared by diluting the 0.1 *N* solution.

In standardization, the same procedure was followed as in the titrations. The primary standard (potassium acid phthalate) was dissolved in acetic acid to 100.0 ml, and 10.00 ml aliquots of this were titrated potentiometri-

* This paper is abstracted from the Master's Thesis of *M. Gutterson*, June, 1956.

cally and with crystal violet for indicator. In this manner, errors coming from the use of pipets calibrated for work with aqueous solutions were eliminated by compensation.

Solvents

Acetic acid, C. P. grade; chloroform, C. P. grade; acetic anhydride, ACS reagent; formic acid, 98–100% C. P. grade, Allied Chemical and Dye Corp., N. Y.; and propionic acid, certified reagent grade, Fisher Scientific Co., N. Y.

Indicators

1% Dibenzalacetone in acetic acid. The dibenzalacetone was prepared by the condensation of acetone and benzaldehyde[4], recrystallized from ethyl acetate, and dried at room temperature in a desiccator for several days.

0.1% crystal violet in acetic acid; 0.1% eosin Y in acetic acid; 0.1% malachite green in acetic acid; 0.2% methyl violet in chlorobenzene; 0.1% *p*-naphtholbenzein in acetic acid; 0.1% neutral red in acetic acid; 0.5% *o*-nitroaniline in acetic acid; 0.1% safranin O in acetic acid; and 1% triphenylcarbinol in acetic acid.

Apparatus

Beckman model G p_H meter with $2^1/_2''$ glass electrode and fiber type $2^1/_2''$ calomel electrode; magnetic stirrer; and microburet *(Koch)*, 5-ml capacity, graduated in 0.01 ml.

Titrations in Acetic Acid

Procedure

Any method chosen for routine titrations should be reasonably simple, use materials readily available in the laboratory or readily obtainable, and require a minimum amount of equipment. The method of *Pifer, Wollish* and *Schmall*[5] was selected as a starting point with the aim of reducing the sample size to within 3 to 5 mg for a titration. It was found satisfactory for visual titrations, but required special equipment for potentiometric titrations, hence changes were made which are described below.

Visual Titration. 30 to 50 mg of the organic base was transferred to a 100-ml volumetric flask, dissolved in acetic acid, and the solution diluted to mark.

For the titrations, 10.00 ml of the sample solution was pipetted into a 125-ml Erlenmeyer flask, and 30 ml of chloroform was added. For halide salts, 1 ml of 6% mercuric acetate solution in acetic acid was added. Finally, the crystal violet indicator solution (0.1 ml) was added and

then the titrant until the color changed from violet to blue. This end point was checked by potentiometric titration of potassium acid phthalate with crystal violet present. Titrating visually to the complete disappearance of the violet color (the solution is then blue) gives a close approach to the potentiometric end point. This is shown graphically in Fig. 1, which indicates that the two end points differ by about 0.08 ml. This discrepancy is partly offset, however, by a similar difference between the potentiometric and visual blanks.

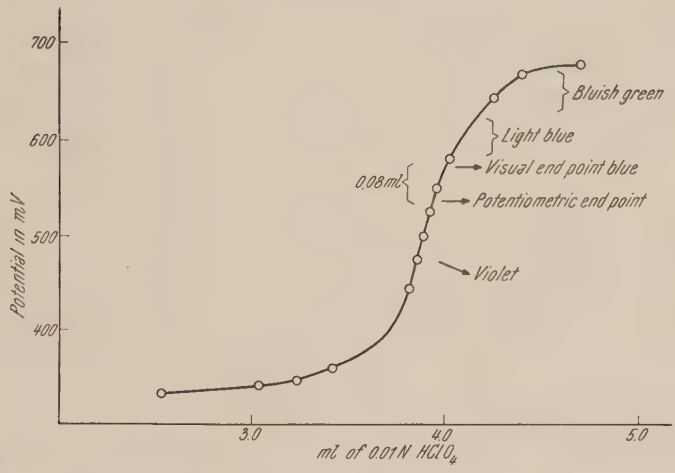


Fig. 1. Titration of potassium acid phthalate with crystal violet indicator showing color changes

Potentiometric Titration. A 100-ml beaker was used as the titrating vessel. A 10.00-ml portion of the sample solution was pipetted into the beaker, and 20 ml chloroform was added. The beaker was placed on top of the magnetic stirrer, and the electrodes were put into the solution. The microburet was positioned so that the tip was just inside the beaker. The titrant was added rapidly at first, then in 0.02-ml increments near the end point. The voltmeter reading was recorded after each addition of titrant. The magnetic stirrer was turned off while taking readings since the needle of the p_H meter was somewhat sensitive to the operation of the stirrer.

Results

The data for the titrations of a number of representative compounds are summarized in Table I. The amount of substance taken was in the range from 13 to 54 μval (micro equivalent). The percentage of compound was usually computed as the mean of three determinations. In the second column, the pK_b's of these compounds in water are included for reference. The potentiometric end points were determined graphically.

Discussion

Visual Titrations. The color change of crystal violet occurs over a wide p_H range, and some experience is necessary before consistent results can be obtained. Two reference solutions were prepared. One contained 10 ml acetic acid, 30 ml chloroform and 2 drops (0.1 ml) of indicator solution; the other was exactly the same, except that 0.01 *N* perchloric acid solution was added until the color changed from violet to blue. These solutions fade on standing and should be prepared when needed. Comparison with them often proved a great help in locating the end point which is indicated by the first complete disappearance of violet from the solution, the color of which changes to a pure blue. Further addition of acid gives a bluish green color which is often taken as the end point in macrotitrations, but this choice does not seem suitable for microtitrations.

Table I. Titration of Some Representative Basic Compounds

Compound	pK_b **	Compound Found	
		Potentiometrically %	Visually * %
Diphenylguanidine	4.2	99.6	98.6
Quinoline	9.0	97.2	95.1
Diethylaniline		96.2	100.0
Brucine	3.1	96.0	94.8
β-Naphthylamine	9.7	94.8	96.6
Thiamine hydrochloride		98.0	97.5
p-Aminobenzoic acid	11.6	+	37.0
2,6-Lutidine		89.6	90.5
Diphenylamine	13.2	+	+
m-Chloroaniline	10.4	82.7	81.2
Glycine	11.6	97.5	96.8
Pyridine	8.6	79.7	77.5
Caffeine	13.4	+	+
Amphetamine sulfate		100.2	96.7

* For *m*-chloraniline, glycine, pyridine, caffeine, and amphetamine sulphate, the normality of the titrant was potentiometrically 0.01135 *N*, visually 0.01111 *N*. For the other bases, the normality was potentiometrically 0.01093 *N* and visually 0.0118 *N*.

** See reference [6].

\+ No end point could be observed.

Potentiometric Titrations. The attainment of a steady potential in acetic acid-chloroform solution was sometimes difficult. Therefore, after a potential reading had been taken, the solution was stirred again, and

another reading was taken. If the two readings agreed within 2 millivolts, it was considered that equilibrium had been reached. If the p_H meter acted erratically after a series of titrations, the solution in the calomel electrode was replaced with fresh saturated potassium chloride solution after a thorough rinsing of the electrode with this solution.

An examination of the data indicates that, in most instances, there is a change of 40 to 50 millivolts for 0.05 ml of 0.01 *N* titrant. This is satisfactory for locating the end point. Of the bases titratable in acetic acid, *m*-chloroaniline gave the smallest change at the end point, about 10 millivolts per 0.05 ml of 0.01 *N* titrant.

Blanks. Visual and potentiometric microtitrations require correction for the blank. The visual blank was 0.075 ml and the potentiometric blank 0.02 ml. Blanks should be determined for each new lot of reagents. As an alternative, the blank may be eliminated by titrating the solvent mixture to the end point, then adding the sample, and finally titrating to again establish the end point.

Precision and Accuracy. The visual titrations were performed in triplicate and the reproducibility was $\pm 0.5\%$ compound. Generally the potentiometric results are higher than the visual values. As a rule, the average of the visual results agreed with the potentiometric result within 1% to 2% compound.

Scope. The dissociation constants in aqueous solution may be used as a guide for comparison. As seen from Table I, bases with pK_b above 12 (caffeine and diphenylamine) cannot be titrated.

Titrations in Acetic Anhydride

Fritz and *Fulda*[7] used acetic anhydride and nitromethane with 0.1 *N* perchloric acid and were able to titrate several weak bases with pK_b larger than 12. Primary and secondary amines and other bases which react with acetic anhydride could not be titrated. Visual titrations were also performed. *Gremillion*[8] used acetic anhydride alone and 0.02 *N* perchloric acid in acetic acid or acetic anhydride for the potentiometric titration of several very weak organic bases including some compounds that react with acetic anhydride. He accomplished this by titrating at 0° C. No visual titrations were performed.

In the present investigation, preliminary experiments were performed by potentiometrically titrating in duplicate 20- to 300-μval samples of caffeine ($pK_b = 13.4$) and urea ($pK_b = 13.8$) with the 0.1, 0.05, 0.02, and 0.01 *N* perchloric acid. Caffeine was titrated at room temperature, whereas urea was titrated at 0° C. Since the feasibility of microtitrations with 0.01 *N* perchloric acid was clearly demonstrated (see Table II), determinations of other compounds were carried out with this titrant only.

Table II. Potentiometric Titration of Caffeine and Urea in Acetic Anhydride

$HClO_4$ N	Caffeine		Urea	
	Sample μval	Compound Found %	Sample μval	Compound Found %
0.1040	91.56	100.3	303.1	92.3
0.05349	36.62	105.4	121.2	96.1
0.01986	18.31	100.3	60.62	93.2
0.01228	18.31	100.2	60.62	94.8

Procedure

Potentiometric Titrations. A 1- to 5-ml portion of the sample in glacial acetic acid was accurately measured into a 50-ml beaker. For titrations at room temperature, 30 ml of acetic anhydride was added, and the electrodes were inserted. At first, the titrant was introduced rapidly; near the end point, it was added in 0.05-ml increments. For titrations at 0° C, the acetic anhydride was cooled separately in an ice-salt bath. The beaker containing the acetic acid solution of the substance to be titrated was cooled separately in an ice bath. The ice cold acetic anhydride was added to the cooled acetic acid solution of the sample. The titration was then completed as above with the titrating vessel remaining in the ice bath. A blank was determined in each case.

Visual Titrations. The indicator for visual titrations can be chosen from the potentiometric titration curve. Acetic anhydride (30 ml), at room temperature or 0° C, containing the appropriate indicator (0.2 ml), was titrated with 0.01 *N* perchloric acid until the end point color was attained. Then the sample solution containing 20 to 60 μval of the base in 1 ml acetic acid was added and the titration completed.

Results

The results of potentiometric titrations are listed in Table III; those of visual titrations, in Table IV. With the object of finding appropriate indicators for microtitrations and also to obtain a list of indicators which might span the entire potential range in acetic anhydride, the ranges in which the indicators change color in this solvent were determined and are listed in Table V. This table has its limitations since the potentials in nonaqueous solutions are not properly reproducible, but it may serve as a guide in selecting an indicator for visual titration in acetic anhydride.

Discussion

Titration Methods. Most of the visual titrations in acetic anhydride gave fairly sharp color changes. From Table V it can be seen that several

of the indicators may be used interchangeably. As an example, malachite green gave as good a result for the titration of nicotinic acid as does triphenylcarbinol. However, the four indicators mainly used in acetic anhydride were crystal violet, triphenylcarbinol, neutral red, and dibenzalacetone. The very weak bases such as *o*-tolidine, phenylurea, and acetanilide gave potential changes of about 10 millivolts per 0.05 ml of titrant.

Table III. Potentiometric Titrations in Acetic Anhydride

Compound	pK_b *	Temperature	Compound Found %	Approx. End Point Potential mv
Nicotinic acid		r. t.	94.3	840—850
			94.8	
Benzimidazole		r. t.	97.5	860—870
			97.0	
o-Tolidine		0°	96.8	935
			97.8	965
Diphenylamine	13.2	0°	88.1	900
		0°	89.5	1015
Acetanilide	13.4	0°	74.5	900
			106.8	980
Phenyl urea		0°	101.7	920
			84.8	950
			81.0	1000

* See reference [6].

Table IV. Visual Titrations in Acetic Anhydride

Compound	Temperature	Indicator	Compound Found %
Caffeine	r. t.	Neutral red	104.9
			102.9
Nicotinic acid	r. t.	Triphenylcarbinol	96.1
			96.1
Benzimidazole	r. t.	Triphenylcarbinol	98.6
			98.5
Urea	0°	Dibenzalacetone	98.5
			98.1
o-Tolidine	0°	Dibenzalacetone	97.4
Diphenylamine	0°	Dibenzalacetone	87.6
			87.6
Acetanilide	0°	Dibenzalacetone	Unsatisfactory
Phenylurea	0°	Dibenzalacetone	Unsatisfactory

Of these, *o*-tolidine gave the least satisfactory endpoint in visual titrations. A somewhat stronger base, such as diphenylamine, gave a potential change of from 20 to 25 millivolts, and benzimidazole and nicotinic acid which are still stronger bases gave potential changes of 80 to 130 millivolts per 0.05 ml titrant.

Table V. Transition Ranges of Indicators in Acetic Anhydride

Indicator	Color Change	Transition Range Millivolts
Methyl violet	purple-blue	650—700
p-Naphtholbenzein	yellow-green	650—700
Crystal violet	purple-blue green	670—715
Triphenylcarbinol	colorless-yellow	750—795
Neutral Red	pink-blue	880—915
Malachite green	green-yellow	915—950
Dibenzalacetone	colorless-yellow	930—960
Safranin O	pink-yellow	940—965
Eosin Y	colorless-yellow*	Approx. 950
o-Nitroaniline	yellow-colorless**	1020—1040
Anthraquinone	no color change	

* Color faded rapidly.

** The color change was irreversible. Back titration with sodium acetate did not bring back the color.

The establishment of a steady potential proved to be the principal difficulty with the potentiometric titrations in acetic anhydride. Therefore, 0.05 ml of titrant was added near the end point rather than 0.02 ml as in the instance of acetic acid solutions. Potentiometric readings were taken until two successive readings agreed within 2 millivolts or until the potential began to drop.

Effect of Water. Water has a deleterious effect on acid-base titrations in nonaqueous solvents. In an attempt to obtain some quantitative data, titrations of potassium acid phthalate were performed in acetic anhydride and varying amounts of water. These titrations indicate that even in acetic anhydride the water content should be kept to a minimum, preferably below 1%. With 1% water, the end point is still sharp, but occurs somewhat too early. With 2 to 5% water, end points are still obtainable, but their sharpness is reduced so that they are difficult to locate; in addition, the end points occur too early so that 2% less compound is found. If the acetic anhydride containing the added water is allowed to stand for a few days, the sharpness of the end points is restored. Allowing a solution of 5% water in acetic anhydride to stand for only up to two hours did not give a beneficial effect. These facts should be

kept in mind when a solution is submitted for microtitration and the possibility is open that the organic solvent may contain water.

Scope. An examination of the results indicates that bases of pK_b up to about 13.5 may be titrated in acetic anhydride. Compounds with pK_b greater than 13.5 either were not titrable or gave poor and erratic results. Aside from acetanilide and phenylurea, unsatisfactory results were obtained in the titrations of carbazole and benzotriazole at room temperature and of phenacetin, acetamide, benzamide, succinamide and *o*-nitroaniline at 0° C. Two compounds which have pK_b less than 13 were also not titrable: *p*-aminobenzoic acid ($pK_b = 11.6$) did not show an end point even at 0° C and benzidine ($pK_b = 12.1$) gave a white precipitate and showed no end point on titration.

Precision and Accuracy. The experiments indicate that visual and potentiometric titrations usually agree within 2% compound. Strangely, the visual titrations appear more precise than the potentiometric titrations, but this may be due to the instability of the potential and the necessity of using blank corrections.

Titrations in Formic Acid

Shkodin, Izmailov and *Dzyuba*[9] reported the macrotitration of weak bases such as urea and caffeine in formic acid. The solvent was carefully purified before use, and a special electrode system was required. In the present study, titrations were performed in the commercially available formic acid with a simple glass-calomel electrode system.

Procedure. The procedure was the same as developed for titrations in acetic acid.

Discussion. When C. P. formic acid was taken from a freshly opened bottle, potentiometric titrations gave definite breaks for compounds with pK_b values up to 13.5. Titrations could not be performed, however, after the reagent had been standing for a few weeks; the decrease of the strength of the acid resulting from its decomposition may be responsible for this. Since there is no means for stabilizing the reagent, formic acid is not suitable for routine microtitrations. Mention should be made of the fact that *p*-aminobenzoic acid, which could not be titrated in acetic acid or acetic anhydride, gave a normal titration curve in formic acid.

No indicator could be found for titrations in formic acid. This solvent is more acidic than acetic acid or acetic anhydride. Thus, while crystal violet is purple in the latter two solvents and changes to bluish green during titration, this indicator already exhibits a green color when added to formic acid.

Titrations in Propinic Acid

Acid-base titrations in propionic acid were reported by *Terjesen* and *Sandved*[10] who claimed that weaker bases could be titrated in propionic acid than in acetic acid. The commercially available propionic acid and a simple glass-calomel electrode system were employed in the present study.

Procedure. The procedure used was similar to that described for titrations in acetic acid.

Discussion. Titration curves could not be obtained when using commercial propionic acid for solvent. Arbitrarily adding 20 ml acetic anhydride to 250 ml propionic acid, however, made it possible to perform titrations, although greater difficulties were encountered than when titrating in acetic acid. In some instances, it was necessary to stir the solution for several minutes before two potential readings agreed. The addition of a solvent of relatively high dielectric constant such as nitromethane was of little help; the potentials became somewhat steadier, but there was no improvement in the end points.

Propionic acid appears to have a stronger leveling action for bases than acetic acid. Whereas caffeine and urea cannot be titrated in acetic acid on the micro scale, caffeine gave a normal titration curve in propionic acid using approximately 20 μval of sample and 0.01 N perchloric acid, and urea exhibited a distinguishable potentiometric break when using 100 μval of sample and 0.1 N perchloric acid.

Summary

The use of acetic acid as a solvent for the microtitration of organic bases has been investigated. Bases, whose pK_b in water are 12 or below have been found titrable both visually and potentiometrically.

Acetic anhydride permits extending the scope to bases whose pK_b in water are no greater than about 13.5. Visual and potentiometric titrations have been performed at room temperature and at 0° C.

The possibilities of using formic acid and propionic acid have been investigated. Whereas both these solvents exert a greater levelling effect on bases than acetic acid or acetic anhydride, they also have some undesirable features. Formic acid is not stable and commercial propionic acid cannot be obtained with a sufficiently low water content to permit titrations without the addition of acetic anhydride.

Zusammenfassung

Die Eignung der Essigsäure als Lösungsmittel für die Mikrotitration organischer Basen wurde untersucht. Basen, deren pK_b in wäßriger Lösung unter 12 ist, konnten potentiometrisch sowohl, als auch mit Farbindikatoren titriert werden.

Mit Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel kann der Titrationsbereich erweitert werden, so daß noch Basen mit pK_b 13,5 eingeschlossen sind. Potentiometrische Titrationen und Titrationen mit Farbindikatoren wurden bei Zimmertemperatur und bei 0° C ausgeführt.

Auch die Eignung von Ameisensäure und Propionsäure als Lösungsmittel wurde untersucht. Beide erhöhen die Titrierbarkeit schwacher Basen mehr als Essigsäure und Essigsäureanhydrid, besitzen aber auch unerwünschte Eigenschaften. Ameisensäure zersetzt sich langsam und die Propionsäure des Handels enthält zu viel Wasser, um für Titrationen ohne Zusatz von Essigsäureanhydrid geeignet zu sein.

Résumé

L'emploi de l'acide acétique comme solvant pour le microtitrage des bases organiques a été l'objet des recherches des auteurs. Les bases dont les pK_b dans l'eau sont égaux ou inférieurs à 12 peuvent être titrées soit visuellement soit potentiométriquement. L'anhydride acétique permet d'étendre le domaine de titrage à des bases dont les pK_b dans l'eau ne sont pas supérieurs à environ 13,5. Il a été possible d'effectuer des titrages visuels et potentiométriques à la température ambiante ainsi qu'à 0° C. Les possibilités d'emploi de l'acide formique et de l'acide propionique ont été également étudiées. Non seulement ces deux solvants exercent sur les bases un effet de nivellement plus élevé que l'acide acétique ou l'anhydride acétique, mais ils présentent en outre certaines caractéristiques défavorables. L'acide formique n'est pas stable tandis qu'il n'est pas possible d'obtenir l'acide propionique avec une teneur en eau suffisamment basse pour permettre des titrages sans addition d'anhydride acétique.

Literature

[1] *J. B. Conant* and *N. F. Hall*, J. Amer. Chem. Soc. **49**, 3062 (1927).
[2] *N. F. Hall* and *J. B. Conant*, J. Amer. Chem. Soc. **49**, 3047 (1927).
[3] *J. S. Riddick*, Analyt. Chemistry **24** 41 (1952); **26**, 77 (1954); **28**, 679 (1956); **30**, 793 (1958).
[4] *A. H. Blatt* (ed.), Organic Synthesis, Collective Volume 2, New York: Wiley. 1943.
[5] *C. W. Pifer*, *E. G. Wollish*, and *M. Schmall*, Analyt. Chemistry **25**, 310 (1953).
[6] *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-Chemische Tabellen. Berlin: J. Springer. 1931.
[7] *J. S. Fritz* and *M. O. Fulda*, Analyt. Chemistry **25**, 1837 (1953).
[8] *A. F. Gremillion*, Analyt. Chemistry **27**, 133 (1955).
[9] *A. M. Shkodin*, *N. A. Izmailov*, and *N. P. Dzyuba*, Zhur. Obschei Khim. **20**, 1999 (1950); Chem. Abstr. **45**, 3225 (1951).
[10] *S. G. Terjesen* and *K. Sandved*, Kgl. Norske Videnskab. Selskabs. Skrifter, **No. 7** (1938); Chem. Abstr. **33**, 4495 (1939).

Dudley of Staffordshire Technical College and Technical College, Coventry

Studies in Qualitative Inorganic Analysis. XIV*

Separation of the Zinc Group Sulphides

By

D. Bailey and **W. M. Dowson**

(Received April 10, 1959)

In Britain it is customary to separate the zinc group sulphides by first treating the mixed sulphides with very dilute hydrochloric acid. Nickel and cobalt sulphides are more or less insoluble, but manganese and zinc sulphides dissolve as chlorides. Manganese can be reprecipitated as hydroxide or as hydrated dioxide by addition of sodium hydroxide or of sodium hydroxide plus bromine, zinc forming soluble sodium zincate. Zinc sulphide is precipitated from the sodium zincate solution by hydrogen sulphide.

The nickel and cobalt sulphides are usually dissolved in aqua regia or in hydrochloric acid plus bromine, and nickel and cobalt are identified by direct tests on separate portions of the solution.

Separation and identification of zinc by the above method has not always been satisfactory, and it is likely that extraction of the zinc sulphide from the mixed sulphides has frequently been incomplete.

Tenbusch and *Brewer*[1] reviewed existing methods for the separation of the cations, iron, aluminium, chromium, manganese, zinc, nickel and cobalt. The general outlines of these methods were:

1. A precipitation of all of the cations as hydroxides or sulphides followed by various methods for the separation of individual cations.

2. Separation of iron, aluminium, chromium (and sometimes manganese) as hydroxides followed by the precipitation of the remaining cations as sulphides.

3. Separation of iron, aluminium, chromium and manganese hydroxides, precipitation of zinc sulphide from a weak acid solution, followed by the precipitation of nickel and cobalt sulphides from ammoniacal solution.

* Part XIII. Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 841.

In the present investigation only those sections of the different procedures applicable to the separation of manganese, zinc, nickel and cobalt are considered.

Methods in which zinc and manganese sulphides were preferentially dissolved from the mixed sulphides by dilute acid, and the zinc then separated as sulphide from alkaline solution almost invariably led to contamination of the zinc sulphide with cobalt and nickel.

However, precipitation of zinc sulphide from a weak acid media gave a clean white precipitate. It was decided, therefore, to concentrate on the method of selective precipitation of zinc sulphide from a weak acid medium.

According to the survey of *Tenbusch* and *Brewer, Barker* and *Taylor*[2] separated off the iron group hydroxides including manganese, then acidified with acetic acid and separated zinc as zinc sulphide, finally precipitating nickel and cobalt sulphides from ammoniacal solution. This scheme has certain attractions, but we preferred to separate the zinc group sulphides first, as a whole, in the usual way.

After having dissolved the mixed sulphides in aqua regia two alternatives are possible:

(a) Separation of manganese as dioxide from a nitric acid solution by heating with potassium chlorate, adjustment of the p_H of the solution and precipitation of zinc sulphide; tests for cobalt and nickel are then carried out.

(b) Evaporation to near dryness of the aqua regia solution, dilution with buffer solution to give the correct p_H, and separation of zinc sulphide. Manganese dioxide is then precipitated, and the solution is tested for cobalt and nickel.

In (b) the correct conditions for the precipitation of zinc can be obtained simply by addition of a buffer solution, whereas in (a) neutralisation of the acid solution is required before buffering. Moreover because zinc is the first to be isolated in alternative (b) and because the separation of zinc is the least satisfactory feature of the analysis of the zinc group, alternative (b) was chosen for investigation.

Experimental

In preliminary tests the mixed sulphides were dissolved in aqua regia and the solution evaporated to near dryness. A buffer solution containing equal parts of 2 *N* sodium acetate, and 2 *N* acetic acid was added, the solution was heated, and zinc sulphide was precipitated with hydrogen sulphide. This precipitate was separated off and the solution was boiled to remove hydrogen sulphide. Ammonium hydroxide and bromine water were added and the solution was boiled to precipitate manganese as

dioxide. This was separated off and the resulting ammoniacal solution was divided into two parts; one part was used to test for nickel and the other for cobalt.

On occasions, zinc sulphide was not satisfactorily precipitated. Evaporation to "near dryness" was indefinite, so that the correct p_H was not always obtained by addition of the acetic acid-sodium acetate buffer. However, by evaporating the solution on a hot-plate or over a small flame to complete dryness, and dissolving the residue in *N* acetic acid, clean and very satisfactory separations were invariably achieved. The method finally developed for semi-micro analysis was as follows: After removal of the "iron" group, precipitate the zinc group sulphides with H_2S.

Wash the mixed sulphides with 1 ml of water and reject washings. Add 4–5 drops of conc. HCl plus 2–3 drops of conc. HNO_3 (Note 1). Warm to dissolve and transfer the solution to a small dish. Evaporate it to dryness in a fume cupboard using a hot-plate or small flame (Note 2). To the residue add 1–1.5 ml of approximately *N*-acetic acid and heat to boiling. Transfer to tube and pass H_2S. Centrifuge.

Residue	*Solution*
White ZnS. Wash. Dissolve in a few drops of 4 *N* HCl. Dilute with a little water and boil to remove H_2S. Cool. Test for zinc.	Transfer to a small dish or test tube and boil out H_2S (Note 3). Make just alkaline with concentrated aqueous NH_3 and add a few drops of saturated bromine water. Boil and centrifuge.

Residue	*Solution*
Black MnO_2. Test for manganese.	Divide into two parts. (a) Test for nickel. (b) Acidify with 4 *N* HCl and test for cobalt

Notes

1. Instead of conc. HNO_3, 3 drops of conc. (15%) sodium hypochlorite solution can be used.

2. Evaporation must be completely to dryness in order to remove oxidising agents, or some sulphur may precipitate when H_2S is passed. If the residue is overheated, and blackened, it does not dissolve completely in dilute acetic acid.

3. If H_2S is not boiled out, addition of ammonia solution precipitates cobalt and nickel sulphides.

The following mixtures or solutions were prepared and the zinc group sulphides, precipitated by H_2S after addition of NH_4Cl plus aqueous ammonia solution, were analysed by the proposed method.

In each case the equivalent of about 15 mg of mixed salts was taken for analysis. In *A*, *C*, and *D*, the salts were present in approximately equal proportions. *B* contained 1 mg $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ and 5 mg of each of the other three salts. The borate in *D* was removed as ethyl borate before addition of NH_4Cl plus aqueous ammonia.

A	*B*	*C*	*D*
$MnSO_4 \cdot 2\ H_2O$	$ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$	$NiSO_4$ cryst.	$ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$
$CoSO_4$ cryst.	$MnSO_4 \cdot 2\ H_2O$	$CoSO_4$ cryst.	$MnSO_4 \cdot 2\ H_2O$
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	$NiSO_4$ cryst.	—	$NiSO_4$ cryst.
—	$CoSO_4$ cryst.		$CoSO_4$ cryst.
			$Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$

Confirmatory tests applied for the detection of the cations of the zinc group were:

Zinc. One drop of $K_4Fe(CN)_6$ soln. was added. A white precipitate indicated *Zinc*.

Manganese. A few drops of 4 *N* H_2SO_4 plus one drop of $AgNO_3$ soln. plus a little solid ammonium persulphate were added and the mixture was heated to boiling. A purple colour indicated *Manganese*.

Nickel. 2 drops of 1% alcoholic soln. of dimethylglyoxime were added. A red precipitate indicated *Nickel*.

Cobalt. 1 drop of $SnCl_2$ soln. was added plus solid NH_4CNS. The solution was shaken with 0.5 to 1 ml of *n*-butyl alcohol/ether mixture (3 : 1). A blue colour in top layer indicated *Cobalt*.

The following results were obtained:

	A	*B*	*C*	*D*
Zinc	Absent	Present	Absent	Present
Manganese	Present	Present	Absent	Present
Nickel	Absent	Present	Present	Present
Cobalt	Present	Present	Present	Present

It may be noted that as little as 1 mg of zinc sulphate in the presence of 15 mg of other salts of the zinc group gave a good positive reaction for zinc (*B* above). A similar mixture analysed by first extracting the mixed sulphides with cold 0.4 *N* HCl and separating zinc from manganese by treating the acid solution with sodium hydroxide plus bromine water, gave only a slight, and rather indefinite, reaction for zinc.

Summary

Existing methods for the separation of the zinc group sulphides have been studied, and a procedure based on the selective precipitation of

zinc as sulphide from an acetic acid solution, whereby it is separated from manganese, nickel and cobalt, has been investigated. Details of the method for use in semi-micro qualitative analysis are given.

Zusammenfassung

Methoden zur Trennung der Sulfide der Zinkgruppe wurden untersucht und ein Verfahren überprüft, das auf der selektiven Fällung des Zinks aus essigsaurer Lösung beruht, wobei es von Mangan, Nickel und Kobalt getrennt wird. Einzelheiten für die Anwendung des Verfahrens in der qualitativen Halbmikroanalyse werden mitgeteilt.

Résumé

Les auteurs ont étudié les méthodes existantes pour la séparation des sulfures du groupe du zinc; ils ont fait porter leurs recherches sur une technique fondée sur la précipitation sélective de zinc, en solution acétique, sous forme de sulfure, pour le séparer du manganèse du nickel et du cobalt. Ils donnent les détails de la méthode pour son application en analyse semi-microqualitative.

Literature

[1] *M. M. Tenbusch* and *G. E. F. Brewer*, J. Chem. Education **23**, 67 (1946).
[2] *H. H. Barker* and *T. J. Taylor*, Semimicro Qualitative Analysis. New York: D. Harper & Brothers. 1942; zitiert nach [1].

Aus dem Analytischen Laboratorium der Joh. A. Benckiser GmbH., Chemische Fabrik, Ludwigshafen/Rhein

Beitrag zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid und N-Acetyl-D-Glucosaminyl-Isonicotinsäurehydrazid mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat

Von

Walter Nielsch* und **Lieselotte Giefer**

(Eingegangen am 11. Mai 1959)

1,2-Naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium findet in der analytischen organischen Chemie vielseitige Verwendung. So haben *Ehrlich* und *Herter*[1], *Feigl*[2] u. a. dieses Reagens zum Nachweis aktiver Methylen- und Aminogruppen benutzt. Es lag daher nahe, auf diese Vorarbeiten eine quantitative Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid (INH) zu gründen, worüber bereits *Brettoni*[3], *Pratt*[4], *Rubino* und *Bracco*[5], *Scott*[6] und *Shorts*[7] berichtet haben. In einigen dieser Arbeiten wird das Verfahren zur INH-Bestimmung in biologischen Flüssigkeiten verwendet, ohne dessen Zulässigkeit hierfür zu beweisen. Da wir bei der Nacharbeit der vorstehend zitierten Arbeitsvorschriften einige Schwierigkeiten hatten, insbesondere um die in biologischen Flüssigkeiten mit diesem Reagens auftretenden und auf jeden Fall zu berücksichtigenden Leerwerte exakt bestimmen zu können, schien es uns notwendig, zuerst die Abhängigkeit der benutzten Grundreaktion von verschiedenen Versuchsbedingungen näher zu untersuchen.

Absorptionsspektrum

Um den günstigsten Spektralbereich für eine quantitative photometrische Bestimmung zu ermitteln, führten wir unsere Modelluntersuchungen zunächst mit wäßrigen INH-Lösungen durch. Diese wurden mit Pufferlösung ($p_H = 8{,}5$) und 0,2%iger wäßriger 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung versetzt und der Reagensüberschuß nach 5 Minuten durch 2%ige Natriumsulfitlösung entfärbt. Auf die gleiche Weise wurde

* Mannheim, Karl-Reiss-Platz 12.

eine Blindlösung der Reagenzien hergestellt. Gemessen wurde nach einstündigem Aufbewahren im Dunkeln. Um das Absorptionsmaximum zu ermitteln, wurden die Absorptionskurven des Reaktionsproduktes und der Blindlösung gegen Wasser aufgenommen, ebenso die Absorptionskurve der Reaktionslösung gegen die Blindlösung. Diese Messungen erfolgten im Beckman-DU in 1-cm-Küvetten. Dabei ergab sich, daß der günstigste Spektralbereich für die photometrische Messung zwischen 440 und 480 nm liegt. Die folgenden Messungen wurden im Elko II mit dem Filter S 45 E und im Eppendorf-Photometer mit Filter Hg 436 vorgenommen. Die Verwendung des Filters S 47 E brachte keine Vorteile. Aus unseren Messungen ergibt sich für den p_H-Wert 8,5 eine molare Extinktion von 10140 für Filter S 45 E im Elko II und 10070 für Filter Hg 436 im Eppendorf-Gerät.

Abhängigkeit der Färbung vom p_H-Wert

Die Bildung des gefärbten Reaktionsproduktes ist vom p_H-Wert der Lösung abhängig. Um den p_H-Bereich festzustellen, bei dem die Färbung möglichst unabhängig von geringen unvermeidbaren p_H-Schwankungen ist, wurden gleiche Mengen INH (40 μg/25 ml Wasser) in gepufferten Lösungen vom p_H 5 bis 12 mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat umgesetzt. Unterhalb p_H 8 wurden Mischungen wäßriger Lösungen von sekundärem Natriumphosphat nach *Sörensen* (4,75 g/100 ml) und primärem Kaliumphosphat nach *Sörensen* (3,63 g/100 ml) als Puffer verwendet, für das p_H-Gebiet 8 bis 9 Mischungen von Boraxlösung mit 0,1-n Salzsäure und oberhalb p_H 9 Mischungen von Boraxlösung mit 0,1-n Natronlauge. Die Sulfitlösung wurde jeweils frisch mit der entsprechenden Pufferlösung angesetzt. Gemessen wurde gegen eine Blindlösung gleichen p_H-Wertes im Eppendorf-Photometer mit Filter Hg 436 in 4-cm-Küvetten und im Elko II mit Filter S 45 E in 5-cm-Küvetten.

Tabelle 1

p_H	E_{50} Elko II, S 45 E	E_{40} Eppendorf, Hg 436
5,1	0,14	0,115
5,75	0,165	0,13
6,2	0,375	0,30
6,7	0,42	0,33
7,0	0,46	0,37
7,35	0,56	0,41
7,9	0,64	0,45
8,2	0,64	0,47
8,5	0,65	0,46
9,0	0,64	0,47
9,5	0,65	0,47
10,0	0,69	0,47
10,5	0,72	0,50
11,0	0,77	0,50
12,0	0,77	0,50

Dabei erhielten wir die in Tabelle 1 angeführten Ergebnisse.

Abhängigkeit der Farbbildung von der Menge 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat

Die folgenden Versuche wurden in gepufferter Lösung bei p_H 8,5 durchgeführt. Um die Abhängigkeit der Farbbildung von der zugeführten Menge 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat zu prüfen, wurden je 30 µg INH mit wechselnden Mengen Reagenslösung unter sonst gleichen Bedingungen umgesetzt und gegen entsprechende Blindlösungen gemessen.

Wie die Angaben der Tabelle 2 zeigen, ist die Färbung in dem geprüften Bereich von der zugefügten Menge Farbreagens praktisch unabhängig.

Tabelle 2

ml 0,2%ige Naphthochinonsulfonatlösung	E_{40} Eppendorf, Hg 436
0,3	0,34
0,4	0,33
0,5	0,35
0,6	0,34
0,7	0,34
1,0	0,33
1,5	0,34

Abhängigkeit der Farbbildung von der Sulfitmenge

Bei sonst gleichen Bedingungen wurde jetzt die Sulfitmenge variiert; dabei wurden die Ergebnisse der Tabelle 3 erhalten.

Tabelle 3

ml 2%ige Lösung von Natriumsulfit in Pufferlösung 8,5	E_{40} Eppendorf, Hg 436
0,3	0,34
0,5	0,35
0,7	0,34
1,0	0,35

Abhängigkeit der Farbbildung von der Ausgangskonzentration

Je 40 µg INH wurden in steigenden Mengen Wasser mit 1 ml Pufferlösung 8,5 sowie 0,5 ml 0,2%iger 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung versetzt. Nach 5 Minuten wurden 0,5 ml 2%ige Natriumsulfitlösung zugefügt und erst dann auf gleiches Volumen aufgefüllt. Nach 1 Stunde wurde im Eppendorf-Photometer mit Filter Hg 436 in 4-cm-Küvetten gemessen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4

ml Wasser vor Reagenszugabe	E_{40} Eppendorf, Hg 436
3,0	0,43
10,0	0,43
20,0	0,44

Tabelle 5

Zeit in Minuten	E_{40} Eppendorf, Hg 436
5	0,47
10	0,48
15	0,47

Abhängigkeit der Extinktion von der Wartezeit

Bei sonst gleichen Bedingungen wurden gleiche Mengen INH nach Zugabe der 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung verschieden lang stehen gelassen, bevor die Sulfitlösung zugefügt wurde. Dann wurden die Werte der Tabelle 5 erhalten.

Demnach ist es nicht notwendig, die von *Rubino* und *Bracco*[5] angegebene Wartezeit von 5 Minuten genau einzuhalten.

Beständigkeit der Färbung

Nun wurde die Stabilität der Färbung geprüft, indem dasselbe Reaktionsgemisch nach verschieden langem Aufbewahren im Dunkeln im Photometer gemessen wurde (Tabelle 6).

Tabelle 6

Wartezeit im Dunkeln in Minuten	E_{50} Elko II, S 45 E
0	0,72
10	0,69
20	0,69
30	0,72
45	0,72
60	0,72
90	0,70
120	0,70

Die weiteren Messungen wurden daraufhin nach einer Wartezeit von 20 bis 60 Minuten bei Aufbewahrung unter Lichtausschluß nach Reagenszugabe vorgenommen. Um schließlich zu prüfen, ob die verwendete Meßstrahlung als hinreichend monochromatisch für diese Messungen anzusehen ist, wurde dieselbe Lösung in verschiedener Schichtdicke gemessen (Tabelle 7 und 8).

Tabelle 7. Messungen im Elko II, Filter S 45 E

Schichtdicke der Küvetten cm	Gemessene Extinktionswerte	E/d
5	0,960	0,192
2	0,395	0,197
1	0,196	0,196
0,5	0,097	0,195

Tabelle 8. Messungen mit dem Eppendorf-Gerät, Filter Hg 436

Schichtdicke der Küvetten cm	Gemessene Extinktionswerte	E/d
4	0,710	0,177
2	0,350	0,175
1	0,172	0,172
0,5	0,084	0,168

Arbeitsvorschrift für die INH-Bestimmung

Für die Bestimmung von INH in wäßrigen Lösungen ergibt sich daher folgende Arbeitsvorschrift:

Erforderliche Lösungen

a) Pufferlösung p_H 8,5: 64,75 ml einer Lösung von 19,1 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$ in 1 l dest. Wasser werden mit 35,25 ml 0,1-n Salzsäure gemischt.

b) 1,2-Natriumnaphthochinon-4-sulfonatlösung: 0,2%ige Lösung in dest. Wasser. Die Lösung muß im Eisschrank in einer dunklen Flasche aufbewahrt werden. Sie hat gegen Wasser eine Extinktion von 0,46, gemessen im Elko II, Filter S 49 E, Glühlampe, 0,5-cm-Küvette, muß jedoch je nach Aufbewahrungsart und Gebrauch nach je 2 Tagen auf Brauchbarkeit geprüft werden. Trüb gewordene Lösungen sind zu verwerfen.

c) Natriumsulfitlösung: 2%ige, frisch bereitete Lösung von $Na_2SO_3 \cdot 7\ H_2O$ in Pufferlösung (a).

Arbeitsweise

Die zu untersuchende neutrale Lösung wird in einem 25-ml-Meßkolben mit 2 ml Pufferlösung (a) versetzt. Dann fügt man 0,5 ml der 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung (b) zu, schüttelt um und läßt 5 Minuten stehen. Danach gibt man 0,5 ml Sulfitlösung (c) zu, schüttelt um, füllt auf und läßt 20 bis 60 Minuten im Dunkeln stehen. Auf die gleiche Weise bereitet man eine Blindlösung der Reagenzien. Gemessen wird im Elko II, Glühlampe, Filter S 45 E, in 5-cm-Küvetten oder im Eppendorf-Gerät, Filter Hg 436, in 4-cm-Küvetten. Auf diese Weise erhielten wir die in Tabelle 9 angeführten Werte.

Tabelle 9

µg INH/25 ml	µg/ml	Elko II		Eppendorf-Photometer	
		E	*E/c . d*	*E*	*E/c . d*
10	0,4	0,145	0,0725	0,120	0,075
20	0,8	0,295	0,0737	0,235	0,074
30	1,2	0,45	0,0733	0,355	0,074
40	1,6	0,79	0,0737	0,470	0,074
50	2,0	0,74	0,0740	0,590	0,074
60	2,4	0,89	0,0740	0,710	0,074

Liegen Mengen von weniger als 20 µg INH vor, arbeitet man vorteilhafter in 10-ml-Meßkolben. Man nimmt dann nur 0,4 ml Pufferlösung, 0,2 ml 1,2-Naphthochinon-4-sulfonatlösung und 0,2 ml Sulfitlösung. Hierbei ist es besonders wichtig, die Lösungen in den Meßkolben nicht unnötig dem Licht auszusetzen, da sonst sehr leicht relativ große Fehler entstehen können. Kleine Volumina mißt man in Kleinküvetten im Eppendorf-Gerät, Elko II oder Spektralphotometer.

Anwendung des Verfahrens zur Bestimmung von N-Acetyl-D-Glucosaminyl-Isonicotinsäurehydrazid (INHASAN(R))

Wie wir uns an Modellversuchen überzeugen konnten, reagiert INHASAN(R) nicht mit dem benutzten Reagens. INHASAN(R) kann man aber nach der beschriebenen Methode bestimmen, wenn man es zuvor hydrolysiert und dann das freigesetzte INH bestimmt. Eine Lösung von 50 μg INHASAN(R) in 5 ml Wasser (p_H 6 bis 7) wurde am Rückflußkühler gekocht und dann in der wäßrigen Lösung das entstandene INH bestimmt. Dabei fanden wir nach 1 Stunde Kochzeit 25 μg, nach 2 Stunden 48 μg INHASAN(R). Man muß also eine Kochzeit von 2 Stunden einhalten, um das INHASAN(R) bei p_H 6 bis 7 vollständig in N-Acetyl-glucosamin und Isonicotinsäurehydrazid zu spalten.

Um sicherzustellen, daß das Isonicotinsäurehydrazid selbst beim Kochen in wäßriger Lösung in dieser Zeit nicht zersetzt wird, wurden je 20 μg INH 1 Stunde bzw. 2 Stunden in Wasser am Rückflußkühler erhitzt und danach mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat nach dem beschriebenen Verfahren umgesetzt. Die 20 μg INH wurden in beiden Fällen quantitativ wiedergefunden; demnach ist das erarbeitete Verfahren methodisch zulässig.

Außerdem wurde ein Gemisch von 50 μg INH und 100 μg INHASAN(R) in einem Ansatz direkt mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat umgesetzt und in einem anderen Ansatz nach 2stündigem Erhitzen unter Rückfluß. Beim ersten Ansatz wurden 48 μg INH gefunden; im zweiten Ansatz 88 μg Gesamt-INH, das heißt, nach Abzug der ursprünglichen INH-Menge noch zusätzlich 38 μg INH, die 95 μg INHASAN(R) entsprechen. Diese Versuche beweisen die Möglichkeit, INH und INHASAN(R) nebeneinander in wäßriger Lösung zu bestimmen, ohne daß gegenseitige Störungen eintreten. Es ist so ohne weiteres möglich, INH allein in Anwesenheit eines hundertfachen Überschusses von INHASAN(R) noch richtig zu bestimmen, wie die Ergebnisse der Tabelle 10 zeigen.

Tabelle 10

Gegeben 50 μg INH und μg INHASAN(R)	E_{40} Eppendorf, Hg 436	INH gefunden μg
100	0,58	48,5
200	0,58	48,5
300	0,57	48,0
5000	0,60	50,1

Bestimmung von INHASAN(R) und INH nebeneinander

Es werden die gleichen Reagenslösungen verwendet, wie bei der Arbeitsvorschrift zur INH-Bestimmung angegeben. Man bestimmt zu-

nächst das freie INH nach der oben angegebenen Arbeitsweise, und zwar nimmt man für die Bestimmung einen Teil der neutralen Lösung, der 10 bis 80 μg INH in höchstens 20 ml Wasser enthalten soll. Dann bestimmt man die Summe von INH und INHASAN(R). Dazu kocht man einen aliquoten Teil der neutralen Lösung, der 20 bis 80 μg Gesamt-INH (freies INH und aus INHASAN(R) hydrolytisch abspaltbares INH) in 5 bis 10 ml Wasser enthält, 2 Stunden unter Rückfluß. Dann füllt man in einen 25-ml-Meßkolben um und bestimmt nach dem Abkühlen INH in der oben angegebenen Weise. Von dem erhaltenen Wert subtrahiert man die entsprechende, vorher gefundene Menge freies INH und rechnet die Differenz durch Multiplikation mit 2,48 auf INHASAN(R) um.

Störende Substanzen

Um zu prüfen, welche Substanzen die INH-Bestimmung stören können, wurden einige INH-Derivate und einige Substanzen, die als INH-Metaboliten in biologischem Material vorkommen können, nach der Arbeitsvorschrift zur INH-Bestimmung behandelt. Gemessen wurde im Elko II, mit Filter S 45 E, in 5-cm-Küvetten gegen eine wäßrige Blindlösung der Reagenzien. Wir erhielten dabei die Ergebnisse der Tabellen 11 und 12. Die Tabellen 13 und 14 enthalten Analysenergebnisse, die bei der Umsetzung von 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat mit anderen Hydrazinderivaten bzw. mit einer Reihe sonstiger Stickstoffverbindungen erhalten wurden, die unter Umständen als störende Substanzen in Betracht zu ziehen sind.

Tabelle 11. Verhalten von INH-Metaboliten bei $p_H = 8{,}5$

INH-Metabolit (50 μg)	*E* gemessen, Filter S 45 E, Elko II, 5-cm-Küvetten	Entspricht μg INH	% Substanzen, die reagieren
N-Isonicotinoyl-N′-äthanal-hydrazon ..	0,31	21,0	50
N-Isonicotinoyl-N′-aceton-hydrazon ...	0,585	39,0	100
N-Isonicotinoyl-N′-brenztraubensäure-hydrazon	0,334	22,5	76
N-Isonicotinoyl-N′-(α-ketoglutarsäure)-hydrazon	0,284	19,5	80
N,N′-Diisonicotinoyl-hydrazin (Na-Salz)	0	0	0
N-Isonicotinoyl-N′-acetyl-hydrazin	0	0	0
(1-Methyl-pyridinium-4-carboxy-hydrazin)-jodid	0,32	21,5	88
Isonicotinsäure	0	0	0
Isonicotinsäureamid	0	0	0
N-Isonicotinoyl-glycin	0	0	0
Acetyl-hydrazin.....	0,60	40	

Tabelle 12. Verhalten von INH-Derivaten

Substanz (50 μg)	E gemessen, Filter S 45 E, Elko II, 5-cm-Küvetten	Entspricht μg INH
Natrium-N-Isonicotinoyl-N′-methan-sulfonat-hydrazin-hydrat	0,06	4
N-Isonicotinoyl-N′-(D-glucose)-hydrazon (Glucoteben(R))	0	0
N-Isonicotinoyl-N′-(D-glucurono-lacton)-hydrazon (Mycobactyl(R))	0,144	10
INH-PAS-Additionsverbindung, N′-Isonicotinoylhydrazin-(p-Aminosalicylat)	0,40	27
N-Isonicotinoyl-N′-isopropyl-hydrazin-phosphat (Marsilid(R))	0	0
N-Isonicotinoyl-N′-benzal-hydrazon (Isoteben(R))	0	0
N-Isonicotinoyl-N′-(p-Oxybenzal)-hydrazon (Flavoteben(R))	0,04	2,5
N-Isonicotinoyl-N′-(m-Oxybenzal)-hydrazon (Acroteben(R))	0	0
Calcium-di-[N-isonicotinoyl-N′-(methan-sulfonat)-hydrazin]-hexahydrat	0,06	4
Salz aus 1 Mol Dihydrostreptomycin und 3 Mol Isonicotinsäurehydrazid (Streptotibin(R))	0,05	3,5

Tabelle 13. Verhalten einiger Säurehydrazide

Substanz (50 μg)	Gemessen mit Filter S 45 E, Elko II, 5-cm-Küvetten	Entspricht μg INH
Benzhydrazid	0,72	48
Cyanessigsäurehydrazid	0,27	28,5
6-Methylpicolinsäurehydrazid	0,56	38
2-Methylisonicotinsäurehydrazid	0,85	57
Oxalsäuredihydrazid	1,37	94
p-Hydroxy-Benzhydrazid	0,37	25
Nicotinsäurehydrazid	0,71	54
Picolinsäurehydrazid	1,35	94

Bei der Anwendung des beschriebenen Verfahrens zur INH-Bestimmung in biologischen Proben, insbesondere Urin und Serum, die mit Sicherheit kein INH enthielten, wurde durch den „Leerwert“ ein INH-Gehalt vorgetäuscht.

Tabelle 14. Verhalten anderer Substanzen

Substanz	*E* gemessen, Filter S 45 E, Elko II, 50-cm-Küvetten	Entspricht µg INH
p-Aminosalicylsäure (1 ml gesättigte wäßrige Lösung)	0,50	34
10 mg Ammoniumchlorid	0,09	6,5
50 µg N-Acetyl-glucosamin	0	0
50 µg Buttersäureglucosamid	0,005	0
50 µg Bernsteinglucosamidsäure	0,005	0
50 µg Formylglucosamin	0,005	0
50 µg Glucosaminhydrochlorid	0,225	15
1 mg Gallussäure	0,14	10
1 mg Harnsäure	0	0
1 mg Harnstoff	0,01	0
1 mg Hydrazinhydrochlorid	0,22	15
1 mg Nicotinsäure	0	0
1 mg Sulfaguanidin	0,21	14
1 mg Sulfanilid	0,44	30
1 mg Sulfathiazol	0,1	7
1 mg Sulfosalicylsäure	0	0
Skatol (1 ml gesättigte wäßrige Lösung)	0	0

Da diese Leerwerte durchaus unregelmäßig und bisher nicht eliminierbar sind, können wir das Verfahren mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat zur INH- und INHASAN(R)-Bestimmung nur für Analysen in wäßrigen Lösungen nicht biologischer Art empfehlen. Sollen INH, seine Derivate und Metaboliten in biologischen Proben zuverlässig bestimmt werden, so muß ein anderes Verfahren Verwendung finden, das auf den Vorarbeiten von *Nielsch*[8] beruht und über das wir an anderer Stelle ausführlich berichten[9].

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, welche Bedingungen eingehalten werden müssen, um Isonikotinsäurehydrazid mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat im Mikrogramm-Bereich quantitativ ermitteln zu können. Diese Bestimmung ist nicht für INH spezifisch, da neben INH-Metaboliten und -Derivaten auch viele andere Stoffe, insbesondere andere Säurehydrazide, ähnliche Färbungen geben. Bei der praktischen Verwendung des Verfahrens muß daher Sorge getragen werden, daß Störungen ausgeschlossen bleiben. Die bisherigen Vorschriften zur INH-Bestimmung in biologischen Proben nach diesem Verfahren nehmen hierauf nicht genügend Rücksicht und sind daher unzuverlässig. Auf ein brauchbares Verfahren zur Bestimmung von INH und seinen Metaboliten in biologischen Proben wird hingewiesen.

Summary

The conditions are shown which must be maintained in order to determine quantitatively isonicotinic acid hydrazide in the microgram region by means of 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate. This determination is not specific for INH, because in addition to INH metabolites and derivatives similar colors are given by many other substances, especially other acid hydrazides. When this procedure is used for practical purposes, care must therefore be taken, that interferences are excluded. The previous directions for determining INH in biological samples by this procedure do not take sufficient account of this factor and consequently they are unreliable. A usable method for determining INH and its metabolites in biological samples is mentioned.

Résumé

Les auteurs indiquent dans quelles conditions il est possible de déterminer quantitativement à l'échelle du μg l'hydrazide de l'acide isonicotinique à l'aide de la naphtoquinone-1,2 sulfonate-4. Cette détermination n'est pas spécifique pour l'hydrazide isonicotinique car à côté de ses métabolites et dérivés il existe de nombreuses autres substances, en particulier d'autres hydrazides d'acides, qui donnent des colorations semblables. Pour l'utilisation pratique de la technique on doit par conséquent prendre certaines précautions afin d'éviter les perturbations. Les modes opératoires décrits à ce jour pour la détermination de l'hydrazide isonicotinique dans des prises d'essais biologiques, d'après cette technique, ne tiennent pas suffisamment compte de ces perturbations et n'offrent par conséquent aucune sécurité. Les auteurs mentionnent une technique utilisable pour le dosage de l'hydrazide isonicotinique et de ses métabolites dans les prises d'essais biologiques.

Literatur

[1] *P. Ehrlich* und *C. A. Herter*, Z. physiol. Chem. **41**, 329 (1904).
[2] *F. Feigl*, Spot Tests in Organic Analysis. Amsterdam: Elsevier. 1956. S. 301.
[3] *B. Brettoni*, Arch. ital. scienc. farm. Serie **3**, **2**, 227 (1952).
[4] *E. L. Pratt*, Analyt. Chemistry **25**, 814 (1953).
[5] *G. Rubino* und *M. Bracco*, Minerva Med. **43**, 1136 (1952).
[6] *P. G. W. Scott*, J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 681 (1952).
[7] *E. Shorts*, Lancet **1**, 656 (1954).
[8] *W. Nielsch*, Chem.-Ztg. **82**, 137, 329, 494 (1958).
[9] *W. Nielsch* und *L. Giefer*, Arzneimittelforsch. **9**, 636, 700 (1959).

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Arbeitsstelle für Kreislaufforschung, Berlin-Buch

Verbesserte Tüpfelreaktion für Herzglykoside

Von

K.-H. Segel

(Eingegangen am 20. Mai 1959)

Herzglykoside sind pharmakologisch wichtige Substanzen, die zur Gruppe der Steroide gehören. Zu ihrer qualitativen Unterscheidung und Charakterisierung zieht man seit langem die Farbfolge mit konz. Schwefelsäure heran. Wegen der möglichen Verkohlung der Substanz benutzten *v. Euw* und *Reichstein*[1] 84%ige Schwefelsäure, die sich in der Folgezeit als günstiger erwies. Mit dieser Reaktion lassen sich eng miteinander verwandte Verbindungen, etwa Scillarenin und Bufalin[2], gut unterscheiden.

Für den Nachweis der Bufadienolide („C_{24}-Herzgifte") auf Papier empfahl *Katz*[3] Furfurol-Schwefelsäure-Eisessig, womit blau bis violette Farbtöne erhalten werden. Später berichtete *Malowan*[4] von einer empfindlichen Farbreaktion der Steroide in konz. Schwefelsäure, die bei einem Zusatz von 2%iger Furfurollösung Farbveränderungen von Rot über Grün bis Blau zur Folge hatte. Der gleiche Autor[5] deutete auf die Möglichkeit einer Tüpfelreaktion hin.

Wir haben diese Methode zu einem brauchbaren Tüpfelnachweis für Herzgifte ausgebaut und in der nachstehenden Tabelle einige Beispiele angeführt. Zum Vergleich sind die Farbreaktionen mit 84%iger Schwefelsäure angegeben. Diese Methode eignet sich gleichermaßen für Cardenolide und Bufadienolide. Sie ist empfindlicher als die Reaktion mit Schwefelsäure und stellt, wegen der häufig verschiedenen Farbtöne, einen zusätzlichen Nachweis dar. Versuche mit 80%iger Schwefelsäure an Stelle der 84%igen zeigten die gleichen Ergebnisse. Die Reagenslösungen sind wochenlang haltbar. Für einen Nachweis werden etwa 40 μg benötigt. Die Blindprobe zeigt eine schwach gelbe Farbe.

Bemerkenswerte Unterschiede zwischen Glykosiden, Aglykonen und Aglykon-acetaten konnten nicht festgestellt werden.

Tabelle 1. Beispiele der verbesserten
Im Normaldruck zum Vergleich die

	10 sek	1 min	3 min
Scillaren	*rotviolett* rotbraun	*violett* weinrot	*violett* violett
Digitoxin	*graubraun* gelbbraun	*graubraun* dunkelbraun	*rötlichgraubraun* gelbbraun
k-Strophantin	*braungrün* grün	*dunkelbraun-grün* grün	*grünlichbraun, mit violettem Rand* grün
Convallatoxin	*hellgelb* gelb	*grünlichgelb* grünlichgelb	*braun, mit violettem Rand* grünlichgelb
Cymarin	*graubraun* gelbbraun	*braun* gelbbraun	*dunkelbraun* gelbbraun
Cymarol	*braun* braun	*dunkelbraun* dunkelbraun	*rötlichdunkelbraun* dunkelbraun
Ouabain (g-Strophanthin)	*farblos* farblos	*gelblich* farblos	*gelblich* farblos
Digitoxigenin	*rosa* farblos	*dunkelweinrot* gelb	*dunkelweinrot* gelb, mit rötlichem Rand
Strophanthidol	*farblos*[1] farblos[2]	*rotbraun* braun	*schmutzigweinrot* rotbraun
Strophanthidin	*grünlichgelb* grünlichgelb[2]	*schmutziggelbgrün* orange	*dunkelbraun* orange
Strophanthidinsäure	*farblos* farblos	*farblos* farblos	*hellgelb* schwach rosa
Digitoxigenin-3-acetat	*hellrosa*[4] gelblich	*weinrot* gelb	*weinrot* gelb, mit rotviolettem Rand
Strophanthidin-3-acetat	*dunkelrosa* rotbraun	*dunkelgrünlichbraun* grünlichbraun	*braun* grünlichbraun

[1] Nach 30 Sekunden rosa. [2] Nach 30 Sekunden gelb.
[4] Nach 30 Sekunden rosarot.

Tüpfelreaktion für Herzgifte
Farben mit 84%iger Schwefelsäure

5 min	10 min	30 min	1 h	2 h
violett violett	*violett* violett	*violett* violett	*violett* violett	*dunkelviolett* dunkelviolett
schmutzigviolett schmutziggelb-braun	*schmutzigviolett* schmutziggelb-braun	*schmutzigviolett* schmutziggelb-braun	*schwarzviolett* braun	*schwarzviolett* braun
dunkelbraun, mit violettem Rand dunkelgrün	*schwarzbraun, mit violettem Rand* dunkelgrün	*schwarz, mit graublauem Rand* braungrün	*schwarz, mit graublauem Rand* braungrün	*schwarz, mit graublauem Rand* dunkelgrün
violettbraun, mit violettem Rand grünlichgelb	*schwarzbraun, mit bläulich-grauem Rand* grünlichgelb	*schwarzbraun, mit grau-blauem Rand* braungelb	*schwarzbraun* braungrün	*violettschwarz* grün
schwarzbraun, mit violettem Rand gelbbraun	*schwarzbraun, mit violettem Rand* gelbbraun	*fast schwarz, mit grau-blauem Rand* braun	*grauschwarz* dunkelbraun	*schwarzblau* dunkelbraun
rötlichdunkel-braun dunkelbraun	*braunviolett* dunkelbraun	*violettschwarz* dunkelbraun	*violettschwarz* rötlichdunkel-braun	*violettschwarz* braunschwarz
hellbraun schwach hell-rosa	*braun* schwach hell-braun	*dunkelbraun* hellgraubraun	— hellgraubraun	— grünlichgrau
dunkelweinrot orange, mit violettem Rand	*dunkelviolett* rotorange, mit violet-tem Rand	*schwarzviolett* braunweinrot, mit blau-violettem Rand	*schwarzviolett* braunweinrot	*schwarz* —
purpur braun	*dunkelpurpur* braun	*schwarzpurpur* braun	*dunkelviolett* dunkelbraun	*dunkelviolett* dunkelbraun
rostbraun braunorange	*schwarzbraun, mit violettem Rand* braunorange	*dunkelviolett* grünlichbraun-gelb	*schwarzviolett* bräunlichgrün-gelb	*schwarzviolett* grün
schwach grau rosa	*blaugrau* rosa[3]	*blaugrün* grau	— grau	— grau
dunkelweinrot gelb, mit rot-violettem Rand	*dunkelviolett* orange, mit rotviolettem Rand	*schwarzviolett* braunweinrot	*schwarzviolett* dunkelweinrot	*schwarz* —
dunkelbraun grünlichbraun	*schwarzbraun*[5] gelborange[6]	*schwarz* braun, mit braungelbem Rand	*schwarz* braun, mit grünlich-gelbemRand	*schwarz* dunkelgrün

[3] Nach 20 Minuten violettblau.
[5] Nach 20 Minuten grauschwarz.
[6] Nach 20 Minuten grüngelb.

Arbeitsweise

Man bringt 3 Tropfen 80 bis 84%ige Schwefelsäure in die Vertiefung einer weißen Tüpfelplatte. Unmittelbar daneben (auf den Rand) werden 30 bis 50 μg der zu prüfenden Substanz (Herzgift) gebracht. Mit einem durch Eintauchen in eine 5%ige chloroformige Furfurollösung angefeuchteten Glasstab verreibt man die Substanzkörnchen mit der Schwefelsäure. Nunmehr beobachtet man die Farbentwicklung der Lösung und notiert die Farben nach 10 Sekunden; 1, 3, 5, 10, 30 Minuten; 1 und 2 Stunden.

Zusammenfassung

Es wird eine Verbesserung der bekannten Tüpfelprobe für Herzglykoside mit 84%iger Schwefelsäure beschrieben. Durch Zugabe kleiner Mengen einer 5%igen chloroformigen Furfurollösung wurden beträchtliche Farbveränderungen erreicht. Beispiele sind tabellarisch zusammengefaßt.

Summary

An improvement is described in the familiar spot test for cardiac glycosides with 84% sulfuric acid. Distinct color changes were obtained by adding slight amounts of a 5% chloroform solution of furfurol. A tabular compilation of examples is included.

Résumé

Description d'une amélioration de l'essai à la touche connu des glucosides cardiotoniques à l'aide d'acide sulfurique à 84%. L'addition de petites quantités d'une solution chloroformique de furfurol à 5% permet d'obtenir des variations considérables de couleur. Des exemples sont réunis par l'auteur sous forme de tableau.

Literatur

[1] *J. v. Euw* und *T. Reichstein*, Helv. Chim. Acta **31**, 883 (1948).
[2] *P. Zoller* und *Ch. Tamm*, Helv. Chim. Acta **36**, 1744 (1953).
[3] *A. Katz*, Helv. Chim. Acta **36**, 1344 (1953).
[4] *L. S. Malowan*, Ciencia (Mex.) **16**, 153 (1956).
[5] *L. S. Malowan*, Arzneimittelforsch. **8**, 304 (1958).

College of Pharmacy and Department of Chemistry, University of Colorado, Boulder, Colorado, U. S. A.

Optical Crystallographic Properties of Some Antihistaminic Compounds

By

John W. Shell, Norman F. Witt, and **Charles F. Poe***

With 12 Figures

(Received May 20, 1959)

Studies concerned with the fate of a drug in an animal body require a means for positive identification of the drug when it is present in very small quantities. In many instances, a few single crystals of either the administered drug, or some derivative, may be found in one or more organs of the animal body. This condition is particularly true when, for experimental purposes, abnormally high doses are given. The optical crystallographic properties of these recovered materials serve as an excellent means for identification as they are specific, are measured rapidly, and require only minute amounts of material.

The optical crystallographic method is limited in its application to compounds whose properties are known. In this laboratory, crystallographic studies have been made of a number of different groups of organic compounds. Some of these groups include the alkaloids[1,2], the barbiturates[3], some purines and related compounds[4], amino acids[5], sulfonamides[6,7], and other chemotherapeutic drugs[8]. The present report lists the complete optical crystallographic properties of eleven antihistamines.

Methods and Procedure

Each compound in this study was recrystallized several times from the solvents as indicated in Table I, and was tested for solvent of crystallization by the Abderhalden weight-loss method. Melting points and both the observed and calculated molar refraction values were determined

* For reprints address *Charles F. Poe*, University of Colorado, Boulder, Colorado, U. S. A.

as a check on identity, and are listed. For use in the molar refraction calculations, the geometric mean refractive indices of the crystals were employed. This value was equal to $\sqrt[3]{\alpha\beta\gamma}$ for each of the crystals studied, as they were all biaxial. Density determinations were made by an adaptation of the free flotation method of *Thomson* as described by *Bernal* and *Crowfoot*[9].

Table I. Physical Properties

Compound	Recrystallized From	Melting Point, °C	Crystal Density	$\sqrt[3]{\alpha\beta\gamma}$	Molar Refraction	
					Calculated	Observed
Antazoline HCl $C_{17}H_{20}N_3Cl$	Aqueous ethanol	237	1.260	1.669	89.8	89.4
Chlorcyclizine HCl $C_{18}H_{22}N_2Cl_2$	Water	213	*	1.614	603.6*	603.3*
Chloroprophenpyridamine maleate $C_{20}H_{23}N_2O_4Cl$	Water	133	1.242	1.594	105.0	106.9
Diphenhydramine HCl $C_{17}H_{22}NOCl$	Water	166	1.189	1.618	86.2	86.0
Doxylamine succinate $C_{21}H_{28}N_2O_5$	Water	100	1.180	1.562	104	106
Methafurylene fumarate $C_{40}H_{50}N_6O_{14}$	Aqueous ethanol	143	1.344	1.590	211.1	211.0
Methaphenilene HCl $C_{15}H_{21}N_2SCl$	Water	182	1.256	1.662	87.5	87.5
Methapyrilene HCl $C_{14}H_{20}N_3SCl$	Water	160	1.282	1.655	85.22	85.27
Prophenpyridamine maleate $C_{20}H_{24}N_2O_4$	Water	108	1.220	1.590	98.4	98.5
Thonzylamine HCl $C_{16}H_{23}N_4OCl$	Aqueous ethanol	172	1.255	1.633	91.7	92.2
Tripelennamine HCl $C_{16}H_{22}N_3Cl$	Water	189	1.199	1.653	87.0	89.1

* The solubility of this compound in the flotation liquids prevented a density determination. Bond molecular refraction coefficients were substituted for molar refraction values as a check on identity.

The optical properties of the crystals are listed in Table II. They were determined by use of a Leitz petrographic microscope, Model 30 CM, equipped with a five-axis universal stage. A sodium vapor light source of 5893 Å wave length was used. Refractive indices were measured by

Table II. Optical Crystallographic Properties

Compound	Crystals System and Habit	Optic Sign	Optic Orientation***	Optic Axial Angle	Dispersion	Refractive Indices		
						α	β	γ
Antazoline HCl	Orthorhombic, tabular	+	a = Z b = X	50°	strong, axial V > R	1.641	1.653	1.714*
Chlorcyclizine HCl	Monoclinic, tabular	+	b = X c ∧ Y = 22°	35.5°	moderate, axial R > V	1.606	1.608	1.629*
Chloroprophenpyridamine maleate	Orthorhombic, prismatic	+	a = X b = Y	49°	weak, axial V > R	1.539*	1.562	1.686
Diphenhydramine HCl	Orthorhombic, prismatic	—	a = Z b = Y	32.5°	extreme, axial V > R	1.598	1.627	1.630*
Doxylamine succinate	Orthorhombic, tabular	—	a = X b = Z	86°	none	1.525*	1.563	1.598
Methafurylene fumarate	Triclinic, acicular	+	**	68°*	asymmetrical R > V	1.552	1.579	1.642
Methaphenilene HCl	Monoclinic, tabular	—	b = Z c ∧ Y = 32°	70°	moderate, axial R > V	1.615*	1.672	1.700
Methapyrilene HCl	Monoclinic, tabular	—	b = Z c ∧ Y = 31°	65°	strong, axial R > V	1.610*	1.669	1.697
Prophenpyridamine maleate	Monoclinic, prismatic	+	c ∧ Y = (—) 40° b = Z	39°	moderate, crossed R > V	1.546*	1.558	1.669
Thonzylamine HCl	Orthorhombic, lamellar	+	a = Y b = Z	28°	extreme, axial R > V	1.608*	1.611	1.682
Tripelennamine HCl	Monoclinic, tabular	+	b = Z c ∧ X = 19°	84°	moderate, axial V > R	1.545	1.639	1.783*

* Calculated.
** In stereographic projection. See Fig. 12.
*** Based in habit, assuming a < c for monoclinic crystals, a < b < c for orthorhombic and triclinic crystals.

Fig. 1 to 11. Crystals of the Antihistamines under Magnification of Approximately 400 Diameters. *1* Antazoline Hydrochloride; *2* Chlorcyclizine Hydrochloride; *3* Chloroprophenpyridamine Maleate; *4* Diphenhydramine Hydrochloride; *5* Doxylamine Succinate; *6* Methafurylene Fumarate

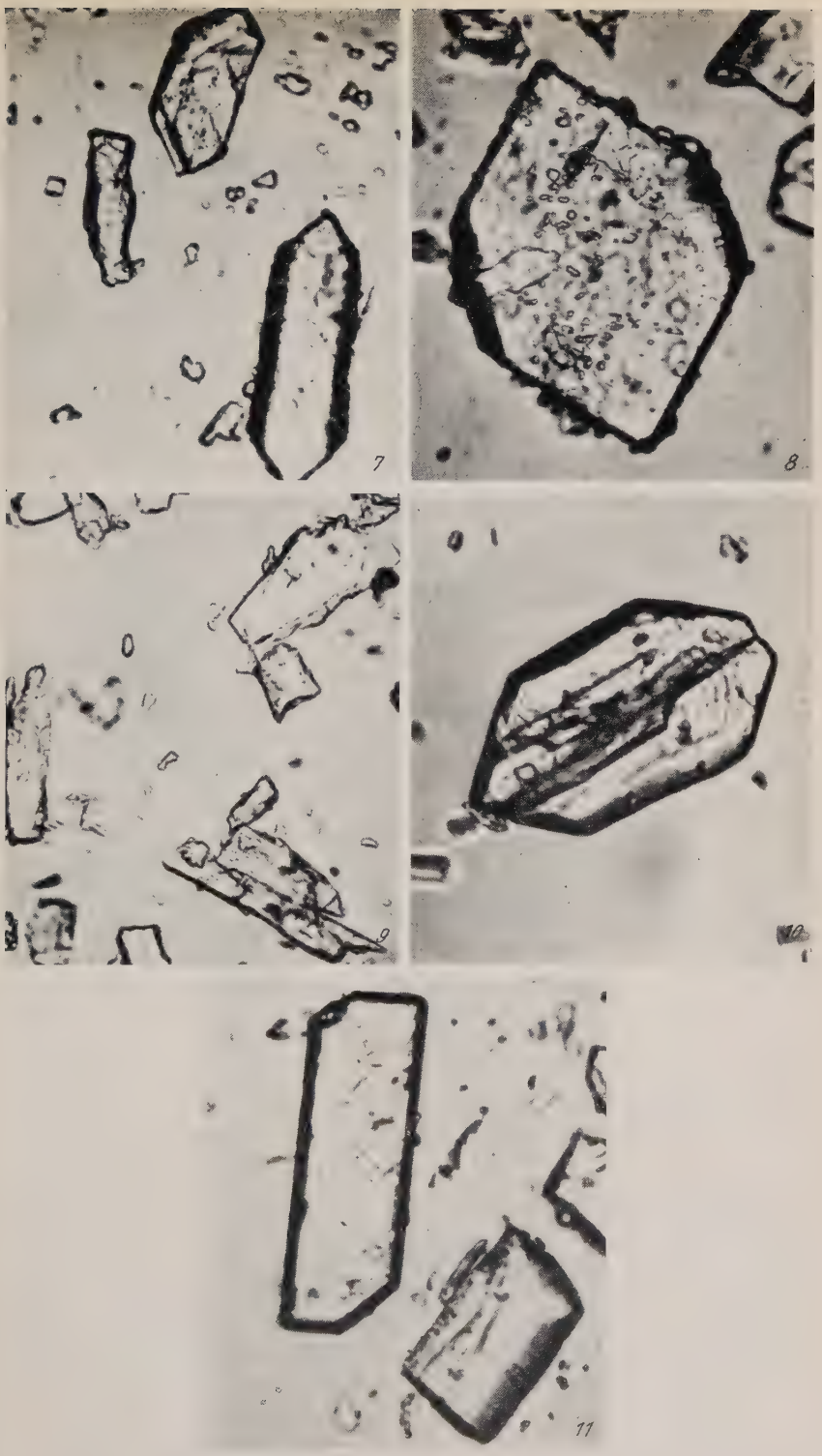


Fig. 7 to 11. *7* Methaphenilene Hydrochloride; *8* Methapyrilene Hydrochloride; *9* Prophenpyridamine Maleate; *10* Thonzylamine Hydrochloride; *11* Tripelennamine Hydrochloride

the immersion method at a temperature of 25 ± 1° C, with media prepared according to the description by *Winchell*[10]. In every instance the indices were measured from the principal crystallographic orientations, as indicated by interference figures, and usually are accurate to ± 0.002. The optic axial angle, 2 v, for each compound was either calculated from the three principal indices of refraction, or measured directly with the universal stage. The latter operation permitted the calculation of one of the three indices of refraction, in instances where this index was difficult to measure. Use was made of the relationship between 2 v and the refractive indices which was suggested by *Larsen* and *Berman*[11].

Experimental Results

The analytical data for the antihistamines are presented in Table I. The optical crystallographic properties are recorded in Table II, and are sufficiently different so as to insure the identification of each of the compounds. Since all data are physical constants only for a given polymorph of a compound, they must be qualified by a disclosure of the crystallization conditions and solvent used. For instance, the polymorphism of sulfanilamide was studied in this laboratory[12], and three distinct phases were discovered. In the present study, 50 per cent aqueous ethanol or water was used to recrystallize the compounds.

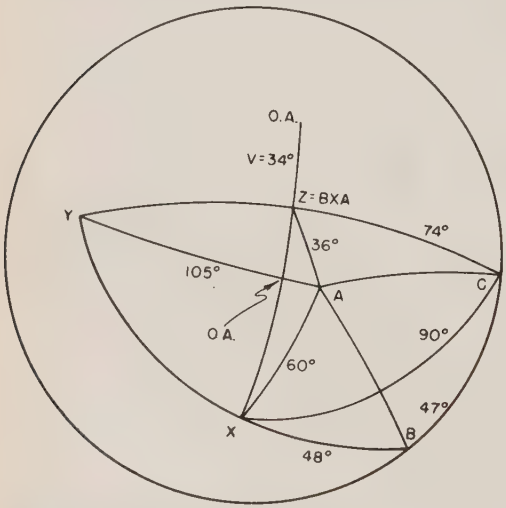


Fig. 12. Stereographic projection showing orientation for the triclinic crystal, methafurylene fumarate

Typical crystalline habit is a useful property for identification purposes, but since this property is independent of crystallographic constants, it is best described by photomicrographs shown in the present study in Figs. 1 to 11. The symmetry of most of the crystals in this study was sufficiently high so that the optical orientation could be described completely in brief notations, as in Table II. The complex orientation for the triclinic crystals of methafurylene fumarate, however, can only be described in stereographic projection, and is presented in Fig. 12.

Summary

The optical crystallographic properties of eleven antihistamines have been determined. The optical properties vary sufficiently so that identification of the individual members is possible.

Zusammenfassung

Die physikalischen und optischen Konstanten der Kristalle von elf Antihistaminen wurden bestimmt. Die optischen Eigenschaften unterscheiden sich genügend, um die Identifizierung einzelner Glieder der untersuchten Gruppe möglich zu machen.

Résumé

Les propriétés cristallographiques optiques de onze antihistaminiques ont été déterminées. Les propriétés optiques varient de façon suffisante pour permettre l'identification de chacun des individus.

Literature

[1] *C. F. Poe* and *J. E. Sellers*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 249 (1932).

[2] *C. F. Poe* and *C. A. Swisher*, J. Amer. Chem. Soc. **57**, 748 (1935).

[3] *M. E. Hultquist*, *N. F. Witt*, and *C. F. Poe*, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 688 (1945).

[4] *J. A. Biles*, *N. F. Witt*, and *C. F. Poe*, Mikrochem. **38**, 591 (1951).

[5] *J. Larsen*, *C. F. Poe*, and *N. F. Witt*, Mikrochem. **34**, 351 (1949).

[6] *R. Castle*, *N. F. Witt*, and *C. F. Poe*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 228 (1949).

[7] *J. W. Shell*, *N. F. Witt*, and *C. F. Poe*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 145.

[8] *J. W. Shell*, *C. F. Poe*, and *N. F. Witt*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 501.

[9] *J. D. Bernal* and *D. Crowfoot*, Nature **134**, 809 (1934).

[10] *A. N. Winchell*, The Microscopic Characters of Artificial Inorganic Solid Substances or Artificial Minerals. New York: Wiley. 1931.

[11] *E. A. Larsen* and *Harry Berman*, U. S. Dept. Interior, Geol. Survey Bull. 848 (1934).

[12] *B. J. White*, *N. F. Witt*, *J. A. Biles*, and *C. F. Poe*, Analyt. Chemistry **22**, 950 (1950).

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung.* VII. Die Anomalie der Sulfonsäureamide

Von

Gerald Kainz und **Hans Huber**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 23. Mai 1959)

Bei dem Versuch, den Aminostickstoff der Sulfonsäureamidgruppe mit salpetriger Säure zu bestimmen, erhielten wir eine Gasmenge, die beträchtlich *über* einem Mol (pro Mol Substanz) lag. Die Gasentwicklung ging relativ leicht vonstatten, was insofern überraschte, als Carbonsäureamide nur schwierig oder überhaupt nicht mit salpetriger Säure reagieren *(Plimmer[2])*. Bei Zusatz von Jodid zur Desaminierungslösung wurde das Gasvolumen auf annähernd 1 Mol reduziert, so daß es den Anschein hatte, als wäre dadurch die Anomalie behoben.

Als wir später das erhaltene Gas chromatographierten, fanden wir nur 0,2 Mol Stickstoff; *die Hauptmenge war Distickstoffoxyd.* Damit wurde die Frage aufgeworfen, *wie die Gasentwicklung bei der Reaktion der Sulfonsäureamide mit salpetriger Säure zustande kommt.*

Zur Orientierung seien die Gasmengen, die bei der Reaktion verschiedener Sulfonsäureamide mit salpetriger Säure bei 80° C entstehen, vorangestellt.

Tabelle 1

	$N_2 + N_2O$ (in Mol)	N_2 (in Mol)	N_2O (in Mol)
p-Aminobenzolsulfonsäureamid	4,84	3,16	1,68
Aminobenzylsulfonsäureamid	2,79	1,23	1,56
p-Toluolsulfonsäureamid	1,81	0,41	1,40

Wie Tabelle 1 zeigt, liefern die Sulfonamide bei 80° C recht unterschiedliche Gasmengen, selbst wenn man bei der ersten und zweiten

* 6. Mitteilung: Anomalie der Indole[1].

Verbindung 1 Mol N_2 für die primäre Aminogruppe abzieht. Da es nicht wahrscheinlich war, daß das gefundene Gasvolumen nur von der Sulfonsäureamidgruppe herrührt, haben wir zum Vergleich auch die entsprechenden *Sulfonsäuren* mit salpetriger Säure behandelt. Tabelle 2 zeigt die bei 80° C erhaltenen Werte.

Tabelle 2

	$N_2 + N_2O$	N_2	N_2O
p-Aminobenzolsulfonsäure	3,08	3,06	0,02
Aminobenzylsulfonsäure	0,96	0,96	—
Toluolsulfonsäure	0,08	0,08	—

p-Aminobenzolsulfonsäure liefert um rund 2 Mol N_2 mehr als erwartet. Diese Gasmenge wird durch die anomale Reaktion von p-Hydroxybenzolsulfonsäure verursacht, die bei der Desaminierung von Aminobenzolsulfonsäure entsteht (vgl. [3]).

Nach Abzug der Werte der Tabelle 2 von denen der Tabelle 1 verbleiben 1,73 bis 1,86 Mole ($N_2 + N_2O$); auf N_2 entfallen 0,10 bis 0,33 Mol, auf N_2O 1,40 bis 1,68 Mol. Nach allem ist *diese Gasmenge der Sulfonsäureamidgruppe zuzuschreiben.*

Zur weiteren Klärung haben wir die *Temperaturabhängigkeit der Reaktion obiger Sulfonsäureamide mit salpetriger Säure* ermittelt (Abb. 1 bis 3).

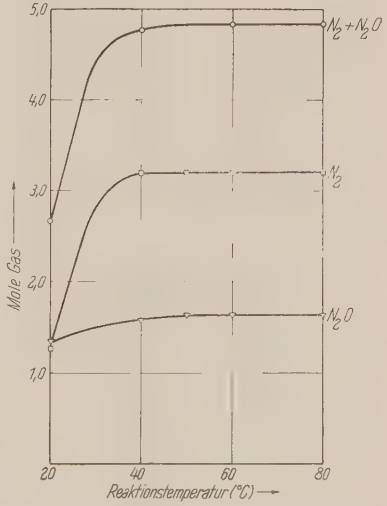


Abb. 1. Temperaturabhängigkeit der Reaktion von p-Aminobenzolsulfonsäureamid mit $\frac{1}{2}HNO_2$ (30%ige Nitritlösung)

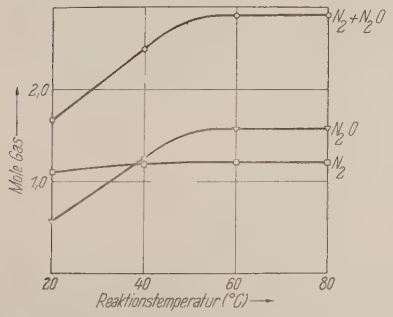


Abb. 2. Temperaturabhängigkeit der Reaktion von Aminobenzylsulfonsäureamid mit HNO_2

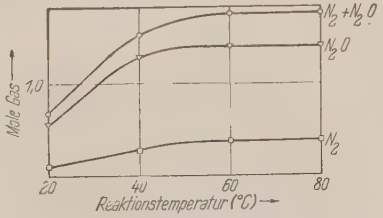


Abb. 3. Temperaturabhängigkeit der Reaktion von Toluolsulfonsäureamid mit HNO_2

p-Aminobenzolsulfonsäureamid (Abb. 1) gibt bei 20° C 2,66 Mole ($N_2 + N_2O$). Bei Temperaturerhöhung steigt die Gasmenge an und erreicht bei 50° C einen Maximalwert [4,86 Mole ($N_2 + N_2O$)]. Es fällt auf, daß die N_2-Menge im Temperaturintervall von 20 bis 50° C um rund 2 Mole ansteigt, die N_2O-Menge hingegen nur um 0,27 Mol. Es ist wahrscheinlich, daß die Zunahme von N_2 hauptsächlich durch die anomale Reaktion der intermediär entstehenden p-Hydroxybenzolsulfonsäureverbindung verursacht wird. Die p-Aminogruppe scheint zur Hauptsache bereits bei 20° C desaminiert zu werden. Aus dem Verlauf der N_2O-Entwicklung kann man annehmen, daß die Reaktion der Sulfonsäureamidgruppe bei 50° C abgeschlossen ist.

Bei *Aminobenzylsulfonsäureamid* (Abb. 2) wird die primäre Aminogruppe in der Seitenkette bei 20° C quantitativ desaminiert. Auch bei dieser Verbindung ist die Reaktion der Sulfonsäureamidgruppe bei etwa 50° C beendet.

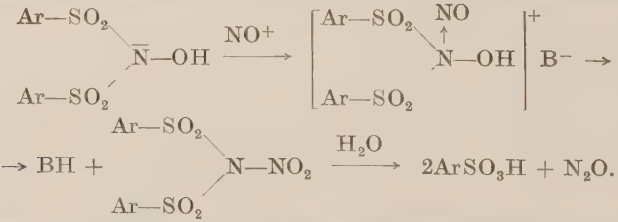
In gleicher Weise gibt *Toluolsulfonsäureamid* (Abb. 3) bei 50° C eine maximale Menge ($N_2 + N_2O$). Nach obigem rührt diese Gasmenge fast nur von der Sulfonsäureamidgruppe her.

Aus den Abb. 1 bis 3 können wir für die Reaktion der Sulfonsäureamidgruppe folgern, daß die gasbildende Reaktion bei 20° C zu etwa 50% abläuft und bei 50° C vollständig ist.

In der Folge haben wir uns näher mit den *Zwischenstufen der gasbildenden Reaktion* befaßt. *Hinsberg*[4] fand, daß Benzolsulfonsäureamid von salpetriger Säure nur in sehr geringem Umfange nitrosiert wird. Bei geringem Nitritüberschuß konnte er *Dibenzolsulfonylhydroxylamin* sowie 1 Mol N_2O isolieren.

$$2\,Ar{-}SO_2NH_2 + 3\,HNO_2 = (Ar{-}SO_2)_2\,NOH + 2\,N_2O + 3\,H_2O.$$

Unter den Bedingungen der Aminostickstoffbestimmung fanden wir statt eines Mols N_2O 1,5 Mole. Daraus ergibt sich, daß *Dibenzolsulfonylhydroxylamin* bei großem Nitritüberschuß noch weiter abgebaut wird; hierbei entsteht zusätzlich ein halbes Mol N_2O (pro Mol Sulfonamid).



Wir haben die Nitrosierung von Dibenzolsulfonylhydroxylamin analog formuliert wie die Reaktion Hydroxylamin-HNO_2. An das einsame Elektronenpaar des Stickstoffs lagert sich ein NO^+-Ion an. Das intermediär entstehende positive Ion spaltet H^+ ab; unter Umlagerung entsteht ein Nitrimin. Dieses ist in wäßriger Lösung unbeständig und zerfällt unter N_2O-Entwicklung.

Außer den 1,5 Molen N_2O, die ihre Erklärung im vorstehenden Reaktionsschema finden, haben wir im Mittel noch etwa 0,25 Mol N_2 erhalten. Dessen Bildung konnte allerdings nicht geklärt werden.

Es war nun fraglich, *wie Jodid in die gasbildende Reaktion eingreift.* Wie wir oben erwähnt haben, entsteht bei Zusatz von Jodid zur Desaminierungslösung nur *1* Mol Gas. Da auch Jod dieselbe Wirkung hat und Jodid von salpetriger Säure augenblicklich zu Jod oxydiert wird, dürfte wohl *Jod das wirksame Agens* sein.

Wir prüften zunächst, ob Jod bei der Zwischenstufe von Dibenzolsulfonylhydroxylamin eingreift. Hierzu setzten wir diese Verbindung bei Anwesenheit von Jod mit salpetriger Säure um. Es trat jedoch keine Änderung bei der Gasentwicklung ein. Dies bedeutet, daß Dibenzolsulfonylhydroxylamin *nicht* das erste Zwischenprodukt der Reaktion Benzolsulfonsäureamid-HNO_2 ist, wie dies noch *Hinsberg* angenommen hat. Jod muß demnach bereits *vorher* in den Reaktionsverlauf eingreifen.

Hinsberg[4] wies nun darauf hin, daß Dibenzolsulfonylhydroxylamin aus Benzolsulfinsäure und salpetriger Säure darstellbar ist. Es scheint möglich, daß Dibenzolsulfonylhydroxylamin auch beim Abbau von Benzolsulfonsäureamid auf diese Weise entsteht. Demnach wäre Benzolsulfinsäure das erste Zwischenprodukt. Die Reaktion kann in folgender Weise formuliert werden:

$$R{-}SO_2NH_2 \rightleftharpoons [R{-}SO_2NH]^- H^+ \xrightarrow{HNO_2} [R{-}SO_2N \cdot NO]^- H^+ \rightarrow$$
$$\rightarrow [R{-}SO_2]^- H^+ + N_2O.$$

Das Sulfonsäureamid wird nitrosiert. Das entstandene Nitrosamin zerfällt — eventuell nach vorheriger Umlagerung in ein Nitrimin — *unter Entwicklung eines Mols N_2O* zur Sulfinsäure.

Nach dieser Formulierung ist die Wirkung von Jod gut erklärbar: bei Anwesenheit von Jod wird die intermediär entstandene Sulfinsäure sofort zur Sulfonsäure oxydiert, wodurch eine weitere Gasentwicklung unterbleibt. Bei Abwesenheit von Jod bzw. Jodid setzt sich die Benzolsulfinsäure mit salpetriger Säure zu Dibenzolsulfonylhydroxylamin um, die dann 0,5 Mol N_2O liefert.

Die gesamte Reaktion der Sulfonsäureamidgruppe mit salpetriger Säure wäre demnach in folgender Weise zu formulieren:

$$2\,Ar{-}SO_2NH_2 + 2\,HNO_2$$
$$\downarrow$$
$$2\,Ar{-}SO_2H + 2\,N_2O$$

$$\xleftarrow{J_2, H_2O} \qquad \xrightarrow{HNO_2}$$

$$2\,Ar{-}SO_3H + HI \qquad (Ar{-}SO_2)_2{-}NOH$$
$$\xrightarrow{HNO_2}$$
$$2\,Ar{-}SO_3H + N_2O$$

Experimentelles

Bezüglich der Apparatur und der Arbeitsweise sei auf frühere Arbeiten von uns[5,6] verwiesen, wo alle näheren Details beschrieben sind.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einen Einblick in die Reaktion der Sulfonsäureamide mit salpetriger Säure zu gewinnen, zumal diese Verbindungen — zum Unterschied von Carbonsäureamiden — bei der Aminostickstoffbestimmung relativ leicht Gas entwickeln. Es wurde gefunden, daß die Sulfonsäureamidgruppe dabei kaum desamidiert wird. Im Mittel entstehen etwa 1,5 Mole N_2O und 0,25 Mol N_2. Die Reaktion der Sulfonsäureamidgruppe ist bei 50° C abgeschlossen. Mit großer Wahrscheinlichkeit dürfte die Reaktion der Sulfonamide mit salpetriger Säure über folgende Zwischenstufen verlaufen: Zunächst entsteht unter Entwicklung eines Mols ($N_2O + N_2$) die entsprechende Sulfinsäure. Diese reagiert mit salpetriger Säure weiter, wobei sich als Zwischenprodukt Diarylsulfonylhydroxylamin bildet. Dieses wird unter Entwicklung von 0,5 Mol N_2O zur Sulfonsäure abgebaut. Setzt man zur Desaminierungslösung Jod bzw. Jodid zu, so wird die intermediär entstandene Sulfinsäure zur Sulfonsäure oxydiert und die Reaktion bleibt bei etwa 1 Mol ($N_2O + N_2$) stehen.

Summary

In the preceding investigation, it was attempted to obtain an insight into the reaction of the sulfonic acid amides with nitrous acid, especially because these compounds, in contrast to carboxylic acid amides, readily evolve gas in the determination of the amino nitrogen. It was found that the sulfonic acid amide group is scarcely deaminated at all under these circumstances. As an average, around 1.5 mols of N_2O and 0.25 mol of N_2 are produced. The reaction of the sulfonic acid amide group is concluded at 50° C. In all probability, the reaction of the sulfonamides with nitrous acid proceeds via the following intermediate stages: Firstly, the corresponding sulfinic acid is formed, with production of one mol of ($N_2O + N_2$). This product reacts further with nitrous acid and yields diarylsulfonylhydroxylamine as intermediate product. The latter breaks down to sulfonic acid with evolution of 0.5 mol N_2O. If iodine or iodide is added to the deaminating solution, the intermediate sulfinic acid is oxidized to sulfonic acid and the reaction stops at around one mol ($N_2O + N_2$).

Résumé

Dans le présent travail les auteurs cherchent à éclaircir la réaction des sulfonamides sur l'acide nitreux d'autant plus que ces combinaisons au contraire des amides des acides carboxyliques donnent facilement lieu à un dégagement gazeux lors de la détermination de l'azote aminé. Il a été établi que le groupement sulfonamide est à peine désamidé lors de cette réaction. Il se forme en moyenne environ 1,5 molécule de N_2O et 0,25 molécule de N_2. La réaction du groupement sulfonamide est achevée à 50° C. Selon

toute vraisemblance la réaction des sulfonamides sur l'acide nitreux doit se produire suivant deux phases intermédiaires: tout d'abord il se forme l'acide sulfinique correspondant avec dégagement d'une molécule du mélange $N_2O + N_2$. Cet acide réagit ultérieurement sur l'acide nitreux en donnant naissance à un produit intermédiaire qui est une diarylsulfonylhydroxylamine. Cette dernière se dégrade en acide sulfonique avec dégagement de 0,5 molécule de N_2O. Si à la solution de désamination on ajoute de l'iode ou encore un iodure l'acide sulfinique qui s'est formé intermédiairement est oxydé en acide sulfonique et la réaction donne lieu qu'au dégagement d'environ une molécule du mélange $N_2O + N_2$.

Literatur

[1] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 903. VI. Mitt.
[2] *R. H. A. Plimmer*, J. Chem. Soc. London **1925**, 2651.
[3] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 891. V. Mitt.
[4] *O. Hinsberg*, Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 598 (1894).
[5] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 51.
[6] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 337.

Badische Anilin- & Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen/Rhein
Ammoniaklaboratorium/Analytisches Laboratorium

Papierchromatographie von Olefinen

Von

Walter Huber

(Eingegangen am 4. Juni 1959)

Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Olefinen stehen dem Analytiker heute außer den klassischen chemischen Methoden eine ganze Reihe moderner physikalischer Verfahren, wie IR-Spektroskopie, Raman-Analyse, Massenspektrometrie und Gaschromatographie zur Verfügung. Diese Verfahren leisten erstaunlich viel, besonders bei der Identifizierung von Bindungsarten sowie spezieller Individuen. Anderseits verlangen sie die Investition sehr beträchtlicher Mittel und sind in ihrer Anwendungsmöglichkeit dort eingeschränkt, wo die Olefine nicht als Hauptbestandteile vorliegen, wie z. B. in Kohlenwasserstoffgemischen. Ein Verfahren, das auch dort noch zu Ergebnissen führt, muß entweder die Olefine durch irgendwelche Verfahren anreichern, was nicht immer möglich ist und einen erheblichen Arbeits- und Zeitaufwand erfordert, oder aber es muß absolut spezifisch sein.

In letzter Zeit sind bei der Bestimmung der Doppelbindungszahl Fortschritte gemacht worden[1]. Es wird Quecksilberacetat angelagert, dessen Überschuß dann durch eine acidimetrische Titration in nicht wäßrigem Medium bestimmt wird. Ähnliche ältere, allerdings weniger elegante Methoden sind ebenfalls bekannt[2]. Die Reaktion zwischen Olefinen und Hg-Acetat verläuft also offenbar rasch und vollständig. Die entstehenden Additionsverbindungen, auch mit anderen Hg-Salzen, waren bereits öfters Gegenstand eingehender Untersuchungen[3] und Auseinandersetzungen[4]. Für den speziellen Fall der Reaktion mit Hg-Acetat in Methanol (die besonders glatt abläuft) wird heute folgendes Schema angegeben[5]:

$$\begin{aligned} &-CH{=}CH- \;+\; Hg(CH_3COO)_2 \;+\; CH_3OH \\ &\qquad\rightarrow -\underset{\displaystyle CH_3COOHg}{\underset{|}{CH}}-\underset{\displaystyle OCH_3}{\underset{|}{CH}}- \;+\; CH_3COOH \end{aligned}$$

Der Acetatrest am Hg ist ionogen gebunden und läßt sich gegen andere Säurereste austauschen. So dienen die Halogenide wegen ihrer Schwerlöslichkeit häufig zur präparativen Darstellung der Verbindungen[3]. Auch Sulfide und Hydroxyde sind bekannt[3]. Die Hydroxyde sind in den meisten Lösungsmitteln löslich und können zum Teil sogar im Vakuum destilliert werden[6]. Es handelt sich also zum Teil um recht stabile Verbindungen, so daß es überrascht, daß mit Säuren, besonders Halogenwasserstoffsäuren, eine sehr rasche, ja momentane Spaltung unter Regeneration der Olefine und Bildung von Hg-Salzen eintritt[3].

Es erschien lohnend, die Hg-Additionsverbindungen der Olefine zu deren papierchromatographischer Identifizierung zu benutzen. Sie erfüllen nämlich eine Reihe von Forderungen, die an Substanzen, die papierchromatographisch untersucht werden sollen, gestellt werden müssen, in beinahe idealer Weise:

Sie sind

1. nicht flüchtig,
2. leicht aus der eigentlichen Untersuchungssubstanz darstellbar,
3. unter den Versuchsbedingungen spezifisch für Olefine, bzw. für Vinylverbindungen,
4. leicht wieder in Olefine und Hg-Salz zerlegbar, das seinerseits leicht und stöchiometrisch zu einem Farbfleck entwickelt werden kann,
5. auch bei langkettigen Olefinen verhältnismäßig hydrophil.

Dazu kommt noch, daß der volumenmäßig kleine Hg-Rest die oft nur geringfügigen Unterschiede zwischen einzelnen Olefinen nur wenig verwischt, was der Trennbarkeit sehr zugute kommt.

Störungsmöglichkeiten sind praktisch keine vorhanden. Nur Vinylverbindungen, wie z. B. Vinylacetat, reagieren in gleicher Weise, sind aber in Kohlenwasserstoffgemischen nicht zu erwarten. Sie können ebenfalls papierchromatographisch getrennt werden, doch wurde dieses Gebiet von uns noch nicht systematisch bearbeitet.

Arbeitsmethodik

Das Olefingemisch (Gas oder Flüssigkeit) wird in reinem Methanol gelöst. Dabei soll die Konzentration einer Komponente etwa 0,5 g/100 ml betragen. Die untere Absolutgrenze ist praktisch durch die bequeme Verarbeitungsmöglichkeit gegeben, also recht klein. Es wird festes, überschüssiges Hg-Acetat zugegeben und die Lösung 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter öfterem Umschütteln stehen gelassen. Höhere Olefine reagieren oft langsamer und verlangen eine längere Einwirkungszeit (etwa 2 Stunden), die man zur Sicherheit auch sonst anwenden kann. Von dieser Lösung werden in üblicher Weise 10 bis 20 μl auf das Papier aufgetragen. Handelt es sich um geringe Olefinkonzentrationen, z. B. in

Kohlenwasserstoffen, darf man die Methanolkonzentration nicht zu klein wählen, da sonst unvollständiger Umsatz eintritt. Man konzentriert dann die Lösung nach dem Umsatz durch Eindampfen im Vakuum.

Bei der großen Verschiedenartigkeit der Olefine (angewandt wurden die Olefine von C_2 bis C_{16}) waren drei Lösungsmittelsysteme nötig, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Von den Dutzenden von Kombinationen, die ausprobiert wurden, haben sich nur die Systeme aus den Komponenten niederer Alkohol/NH_3/$(NH_4)_2CO_3$/H_2O bewährt. Das Ammoniumcarbonat erhöht die Löslichkeit der Additionsverbindung in Wasser stark, bewirkt daher gute R_f-Werte und verhindert Schweifbildung.

Mit dem System I, Propanol, dem soviel Gemisch 1,5-n NH_3 + 1,5-n $(NH_4)_2CO_3$ zugegeben wird, daß sich die Phasen eben noch mischen, lassen sich auf normalem Papier (Schleicher & Schüll 2043b) die niederen Olefine von C_2 bis C_{4-5}, sowie Diolefine trennen (Tabelle 1). Das überschüssige Hg-Acetat bleibt am Auftragsort.

Tabelle 1. R_f-Werte von Olefinen nach System I entwickelt [Propanol/NH_3/$(NH_4)_2CO_3$]

	R_f-Wert
Äthylen	0,47
Propylen	0,54
Isobutylen	0,62
2-Methylbuten-1	0,68
2-Methylbuten-2	0,68
Cyklohexen	0,72
n-Hexen-1	0,79
Isoocten	0,84
Isopren	0,09/0,12/(0,53)/(0,68)
1,5-Hexadien	0,14/(0,73)
Dipenten	0,15/0,31 (verunreinigt ?)

Die in Klammern stehenden Werte geben Flecke geringer Intensität an, vielleicht Verunreinigungen (s. Text).

Für höhere Olefine wurde es notwendig, zweiphasig zu arbeiten, da in den höheren Alkoholen $(NH_4)_2CO_3$ nicht mehr löslich ist, auf seine Anwesenheit in der wäßrigen Phase zur Verhinderung der Schweifbildung aber nicht verzichtet werden kann. (Vielfache Versuche mit hydrophobierten Papieren schlugen sämtlich fehl.) Es wird die Kombination Butanol/1,5-n NH_3 + 1,5-n $(NH_4)_2CO_3$, 1 : 1 angewendet (System II). Dabei wird das übliche Papier mit der wäßrigen Phase getränkt, zwischen Filterpapier abgepreßt und mit der organischen Phase entwickelt. Mit diesem System lassen sich Monoolefine von C_2 bis C_{8-9}, sowie auch

Diolefine erfassen, es ist also beinahe universell anwendbar. Hg-Acetat bleibt wie bei System I am Auftragsort (Tabelle 2).

Tabelle 2. R_f-Werte von Olefinen, nach System II entwickelt [Butanol/NH_3/$(NH_4)_2CO_3$, zweiphasig]

	R_f-Wert	
Äthylen	0,10	C_2
Propylen	0,15	C_3
Isobutylen	0,22	C_4
Buten-1	0,28	
2-Methylbuten-2	0,32	C_5
2-Methylbuten-1	0,36	
n-Penten-2*	0,38/0,43	
n-Penten-1	0,50	
Cyklohexen	0,46	C_6
2-Methylpenten-2	0,48	
4-Methylpenten-2*	0,50/0,60	
2-Methylpenten-1	0,62	
n-Hexen-2*	0,59/0,63	
n-Hexen-1	0,70	
2,3-Dimethylpenten-2	0,70	C_7
Isooctен	0,80	C_8
Cykloocten	0,76	
Cyklopentadien	0,17	
Dicyklopentadien	0,83	
Styrol	0,56	

* Diese Olefine geben zwei gleichstarke Flecken, s. Text.

Die angegebenen Werte können ungefähr um den Betrag $\pm$ 0,03 schwanken, doch bleibt die Reihenfolge unverändert.

Zur Erfassung der höheren Olefine, die bei System II zu hohe R_f-Werte aufweisen, werden die Phasen umgekehrt und an Stelle von Butanol Isoamylalkohol verwendet (System III). Das Papier wird also mit dem organischen Lösungsmittel getränkt und mit wäßriger Phase entwickelt. Es gelingt auf diese Weise, die Olefine C_8 bis C_{12} zu trennen, wobei sich aber noch höhere Olefine ab C_{12} nicht mehr unterscheiden. Das Hg-Acetat läuft hier annähernd mit der Front (Tabelle 3).

Gearbeitet wird nach der absteigenden Methode. Zur Sichtbarmachung der Flecke werden die Papierstreifen zuerst an der Luft getrocknet (Abzug) und anschließend in einem größeren Glaszylinder, auf dessen Boden sich etwas konz. Salzsäure befindet, 5 Minuten mit HCl-Dämpfen geräuchert. Dabei entsteht wieder das Olefin sowie $HgCl_2$. Dieses kann

sodann in üblicher Weise durch Besprühen mit $(NH_4)_2S$ oder Dithizon (empfindlicher!) nachgewiesen werden. Die stabilen, braunschwarzen Flecke von HgS eignen sich zur photometrischen Auswertung.

Tabelle 3. R_f-Werte von Olefinen, nach System III entwickelt [$NH_3/(NH_4)_2CO_3$/Isoamylalkohol, zweiphasig]

	R_f-Wert
Hg-Acetat	0,82
Äthylen	0,74
Isobutylen	0,56
Diisobutylen	0,38
Triisobutylen	0,05
Dodecen	0,05
Tetramerpropylen	0,05
Ceten	0,05

Bei einem Durchlaufchromatogramm wurde gefunden (Isooctен = 1,00)

Trimerpropylen	0,7—0,4	Schweifbildung
Tetramerpropylen	0,17	
Triisobutylen	0,13	

Werden die Papiere beim zweiphasigen Verfahren sorgfältig imprägniert, was bei einiger Übung keine Schwierigkeiten macht, lassen sich außerordentlich scharfe Flecke ohne die geringste Schweifbildung erzielen. Die Reproduzierbarkeit der R_f-Werte ist wegen Verwendung flüchtiger Substanzen zur Imprägnierung des Papiers nicht besonders gut, doch sind die Papiere in sich homogen. Die Verwendung von Testsubstanzen zur Identifizierung ist angezeigt.

Ergebnisse

Da sich die angewandten Verbindungen aus einem gleichbleibenden hydrophilen Rest und einer sich ändernden hydrophoben Gruppe zusammensetzen, war es nicht überraschend, daß unter den Versuchsbedingungen die gefundenen R_f-Werte in erster Annäherung der C-Zahl des Olefins proportional sind (bei der umgekehrten Phase umgekehrt proportional). Dieser Umstand ist für die praktische Anwendbarkeit des Verfahrens von entscheidender Bedeutung, da sich so immer das ungefähre Molgewicht bzw. die C-Zahl des fraglichen Olefins bestimmen läßt — was mit anderen Methoden nur bei vorhergehender fraktionierter Destillation möglich ist.

Störungen dieser Regel werden dadurch hervorgerufen, daß sich die verschiedenen Isomeren ebenfalls noch unterscheiden. Dadurch kommt

es zu Überlappungen zwischen Olefinen verschiedener C-Zahl. Der dadurch entstandene Fehler in der Abschätzung der C-Zahl macht jedoch wohl nie mehr aus als $\pm$ 1 Einheit, da sich einerseits die niederen Olefine noch deutlich trennen lassen, die höheren Olefine sich aber in den R_f-Werten der Isomeren nicht mehr wesentlich unterscheiden.

Zwischen der Konstitution der Isomeren und den zugehörigen R_f-Werten ihrer Hg-Additionsprodukte haben sich interessante Beziehungen herausgestellt (festgestellt bei C_4-, C_5-, C_6- und C_8-Olefinen). Der R_f-Wert sinkt in folgender Reihenfolge der Isomerie ab:

Endständig geradkettig > mittelständig geradkettig >
> endständig verzweigt > mittelständig verzweigt > cyklisch.

Es ist daher bei Olefinen gleicher C-Zahl möglich, einzelne Isomere direkt zu bestimmen. Praktisch anwendbar ist diese Methode allerdings nur bis etwa C_6. Die höheren Olefine sind einmal zu zahlreich, um identifiziert werden zu können, und dann auch in den R_f-Werten zu wenig voneinander verschieden. Gegebenenfalls läßt sich eine Prüfung auf Einheitlichkeit durchführen.

Hierbei tritt ein interessanter Spezialfall ein: Handelt es sich um ein asymmetrisches Olefin mit bindungsmäßig identischen Doppelbindungs-C-Atomen, so werden zwei Flecke in geringem Abstand und gleicher Intensität erhalten. Dies ist nicht etwa auf cis-trans-Isomerie des Ausgangsmaterials zurückzuführen (nach IR-Spektren war dieses sterisch weitgehend einheitlich), sondern rührt offenbar von einer Isomerenbildung bei der Addition her (1—2, 2—1). Da in sämtlichen anderen Fällen nur ein Punkt auftritt, ist die Markownikowsche Regel offenbar erfüllt. Zugesetzte Peroxyde zeigten keinen merkbaren Effekt.

Eine besondere Stellung nehmen die Diolefine ein. Da ihr Hg-Gehalt und damit ihre Hydrophylie gegenüber den Monoolefinen stark erhöht ist, verhalten sie sich wie sehr niedermolekulare Monoolefine und haben daher sehr kleine R_f-Werte. Verwechslungsmöglichkeiten bestehen praktisch nur mit dem Äthylen, das auch einen sehr kleinen R_f-Wert aufweist. Dies gilt jedoch nur für die höheren Diolefine (z. B. Dipenten), die sich vom Äthylen durch Destillation leicht trennen lassen, während die niederen kleinere R_f-Werte besitzen. Die Flecke der Diolefine sind charakterisiert durch eine bis jetzt nicht behebbare Schweifbildung, die wahrscheinlich auf eine Isomeriebildung bei der Addition zurückzuführen ist. Auch kommt es vor, daß an der Stelle, wo das entsprechende Monoolefin zu erwarten wäre, ein Fleck auftritt. Ob das auf eine unvollständige Addition (Mono-Hg-Verbindung des Diolefins) oder auf eine spurenweise Verunreinigung des Diolefins zurückzuführen ist, konnte noch nicht entschieden werden.

Quantitative Auswertung

Die Auswertung wird dadurch erleichtert, daß die Substanzflecke in stöchiometrischen Verhältnissen und in stabiler Form gebildet werden. Wie sich zeigte, sind die Fleckenintensitäten proportional der Olefinmenge, in Molen gerechnet.

Es kommen prinzipiell zwei Verfahren in Frage:

1. Ausschneiden des Substanzflecks und kolorimetrische Bestimmung des Quecksilbers.

2. Direktmessung auf dem Papier, sei es

a) durch Bestimmung der Fleckengröße,

b) durch Bestimmung der Gesamtabsorption eines Flecks durch Vorbeiwandern an einem Spalt und

c) durch Bestimmung der maximalen Lichtabsorption des Flecks.

Zu 1. Das Verfahren wurde in der Weise angewendet, daß das Papier nach Spaltung der Additionsverbindung mit HCl-Gas oberflächlich mit einer Lösung von Dithizon in Tetrachlorkohlenstoff besprüht wurde. Die Substanzflecke werden in gelber (bei geringen Mengen rötlicher) Farbe auf grünem Grund sichtbar. [Diese Entwicklungsmethode ist bedeutend empfindlicher als jene mit $(NH_4)_2S$.] Die Flecke werden ausgeschnitten und das Quecksilber darin in üblicher Weise durch Ausschütteln mit Dithizon bestimmt (kolorimetrisch!). Das Verfahren ist zwar durchführbar, aber wegen der Überempfindlichkeit des Dithizons gegenüber Spuren von Verunreinigungen sehr heikel in der Ausführung. Es wird daher darauf verzichtet, genauere Vorschriften anzugeben.

Zu 2. a) Der Vergleich der Fleckengröße wird am besten an Hand einer Konzentrationsreihe durchgeführt. Sofern keine Auswertegeräte für Papierchromatogramme zur Verfügung stehen, stellt es das brauchbarste Verfahren von verhältnismäßig großer Genauigkeit dar. Es gelingt ohne besondere Schwierigkeiten, einen Substanzfleck in eine Konzentrationsreihe, die von Punkt zu Punkt um 33% differiert, einzuordnen. Das entspricht etwa einer Genauigkeit von zirka $\pm$ 15%, was in Anbetracht der einfachen Hilfsmittel tragbar ist.

b) Diese Methode wäre an sich die eleganteste, bereitete aber experimentelle Schwierigkeiten, da automatische Auswertgeräte nicht zur Verfügung standen. Eine manuelle Auswertung ist aber recht umständlich und kommt für laufende Analysen nicht in Frage.

c) Als bestes Verfahren hat sich die Messung der maximalen Absorption erwiesen. Verwendet wird das Zusatzgerät zum Photometer „Eppendorf", das trotz manueller Anwendung in diesem Falle ausreichend ist. Der Papierstreifen wird in Paraffinöl/Bromnaphthalin transparent gemacht und gut zwischen Filterpapier abgepreßt. Die Länge des Lichtaustrittsspalts darf nicht größer sein als der Fleckendurchmesser. In diesem Falle

ist die Extinktion der Stoffmenge proportional. Vergleiche mit drei Olefinen (2-Methylbuten-1, Cyklohexen, n-Hexen-1) ergaben eine recht befriedigende Genauigkeit von $\pm$ 7,5% und Unabhängigkeit von der Art des angewandten Olefins.

Praktische Anwendungen

In einem Spaltbenzin konnten Olefine von C_4 bis zirka C_9 nachgewiesen werden. Nach einer Fraktionierung dieses Benzins an einer guten Füllkörperkolonne konnte gezeigt werden, daß zwar eine sehr deutliche Anreicherung der in Frage kommenden Olefine in den Fraktionen erzielt worden war, aber keineswegs eine quantitative Abtrennung. Es waren sowohl in den niederen Fraktionen höhere Olefine, als auch in den höheren Fraktionen niedere Olefine noch deutlich nachweisbar.

In niedrig polymerem Polyisobutylen konnte nach Anreicherung durch Ausgasen und Ausfrieren der flüchtigen Bestandteile Isobutylen, Diisobutylen und Triisobutylen nachgewiesen werden.

Es wurde die Dimerisationsgeschwindigkeit von Cyklopentadien zu Dicyklopentadien verfolgt. Während in frisch dest. Cyklopentadien kein Dicyklopentadien nachweisbar war, hatte sich die Dimerisierung in einer 2 Tage aufbewahrten Probe schon zu zirka 75% vollzogen. Nach 1 Woche war Cyklopentadien eben noch nachweisbar. Die Umsetzung erfolgt also relativ rasch.

Die experimentellen Arbeiten wurden von Frl. *I. Schmeisser* mit Umsicht und Eifer ausgeführt.

Zusammenfassung

Durch Umsatz mit Quecksilberacetat kann man Olefine in nicht flüchtige Additionsverbindungen überführen, die sich papierchromatographisch trennen lassen. Dadurch ist es mit einfachen Mitteln möglich, Olefine in beliebigen Kohlenwasserstoffgemischen nachzuweisen und molekulargewichtsmäßig zu charakterisieren. Da keine Vorarbeiten, wie z. B. Fraktionierungen, erforderlich sind, arbeitet das Verfahren sehr rasch. In vielen Fällen können einzelne Komponenten erfaßt werden.

Wird ein Isomerengemisch gleicher C-Zahl untersucht, lassen sich Aussagen über die Anzahl der Isomeren, ihre wahrscheinliche Konstitution und mengenmäßige Verteilung machen. Auch der Reinheitsgrad eines Einzelolefins läßt sich bestimmen. (Einschränkung bei gewissen Olefinen mit möglicher cis-trans-Isomerie sowie bei höheren Olefinen.)

Diolefine können in beliebigen Kohlenwasserstoffgemischen rasch und sicher erkannt werden. Einzeln sind sie jedoch nicht identifizierbar und auch über die Lage der Doppelbindungen (Konjugation usw.) sind keine Aussagen möglich.

Die Chromatogramme sind quantitativ auswertbar. Dabei besteht anscheinend Unabhängigkeit von der Art des Olefins, sofern man sich auf Molmengen bezieht. Da das ungefähre Molgewicht aus dem R_f-Wert ersichtlich ist, können prinzipiell auch unbekannte Olefingemische quantitativ analysiert werden. Die Genauigkeit kann bei photometrischer Auswertung $\pm$ 7,5% betragen.

Summary

By reaction with mercury acetate, olefines can be converted into non-volatile addition compounds, which can be separated by paper chromatography. Consequently, it is possible to detect olefines in any hydrocarbon mixtures by simple means and to characterize them from the standpoint of molecular weight. Since no preliminary operations are needed, such as fractionations, the procedure is quite rapid. Single components can be determined in many instances. If a mixture of isomers with like C-numbers is being studied, it is possible to make statements about the number of isomers, their probable constitution, and the distribution by weight. The degree of purity of a single olefine can likewise be determined. (Limitation with certain olefines with possible cis-trans isomerism and with higher olefines.) Diolefines also can be identified rapidly and surely in any hydrocarbon mixtures. However, they are not identifiable individually and also no assertions are possible regarding the position of the double bonds (conjugation etc.). The chromatograms can be measured quantitatively. Apparently there is independence of the kind of the olefine so far as mol quantities are involved. Since the approximate molecular weight can be deduced from the R_f-value, even unknown olefine mixtures can fundamentally by analyzed quantitatively. The accuracy may be within $\pm$ 7.5% with photometric evaluation.

Résumé

Par réaction sur l'acétate de mercure les oléfines peuvent être fixées sous forme de composés d'addition non volatils susceptibles d'être séparés par chromatographie sur papier. Il est ainsi possible d'identifier simplement les oléfines dans tous mélanges d'hydrocarbures et de les caractériser par leurs masses moléculaires. Cette opération ne nécessitant aucune manipulation préalable telle qu'un fractionnement par exemple il en résulte que la méthode est très rapide. En de nombreux cas il est possible d'identifier des composés isolés. Si l'on doit examiner un mélange d'isomères possédant le même nombre d'atomes de carbone il est possible de les dénombrer et d'établir leurs constitutions vraisemblables et leurs proportions. Il est également possible de déterminer le dégré de pureté d'une oléfine isolée. (Des restrictions relatives à certaines oléfines pouvant présenter une isomérie cis-trans et à oléfines supérieurs.) Les dioléfines peuvent se discerner sûrement et rapidement dans tous mélanges d'hydrocarbures. Toutefois il n'est pas possible de les identifier isolément ni de déterminer la position de la double liaison (conjugaison etc.). Les chromatogrammes peuvent être exploités quantitativement. La détermination est alors apparemment indépendante du type de l'oléfine dans la mesure où elle porte sur des quantités moléculaires. L'ordre de grandeur du poids moléculaire ayant une influence sur la valeur du R_f il en résulte qu'en principe il est possible d'analyser quantitativement des

mélanges d'oléfines inconnues. Lorsque la détermination proprement dite est effectuée par photométrie la précision est de l'ordre de ± 7,5%.

Literatur

[1] *M. N. Das*, Analyt. Chemistry **26**, 1086 (1954).

[2] *R. P. Marquardt* und *E. N. Luce*, Analyt. Chemistry **20**, 751 (1948); *R. W. Martin*, Analyt. Chemistry **21**, 921 (1949).

[3] *K. A. Hofmann* und *J. Sand*, Ber. dtsch. chem. Ges. **33**, 1340, 1353, 2692 (1900); *R. N. Keller*, Chem. Rev. **28**, 229 (1941); *A. N. Nesmeyanov*, Bull. acad. sci. URSS, Classe sci. chim. **1945**, 239; Zusammenfassung: *J. Chatt*, Chem. Rev. **48**, 7 (1951).

[4] *W. Manchot* und *A. Klüg*, Ann. Chem. **420**, 170 (1920).

[5] *W. Choeller*, *W. Schranth* und *W. Essors*, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 2864 (1913).

[6] *J. Romeyer* und *G. F. Wright*, J. Amer. Chem. Soc. **69**, 697 (1947).

Analytisches Laboratorium VEB Fettchemie, Karl-Marx-Stadt

Zur Verbrennung flüssiger Substanzen nach Schöniger

Von

Rudolf Bennewitz

(Eingegangen am 15. Juni 1959)

Die Bestimmung von Halogenen, Schwefel oder Phosphor in festen organischen Substanzen nach *Schöniger*[1–9] darf als allgemein bekannt angesehen werden. Über die Erfahrungen bei der Anwendung dieses Verfahrens auf flüssige Stoffe ist dagegen relativ wenig bekanntgeworden. *Schöniger*[1,8] selbst empfiehlt, Flüssigkeiten mit Kp $> 100°$ in Kapillaren, die in der Mitte etwas bauchig aufgeblasen sind, einzuwägen und diese in einem Stück aschefreien Filterpapiers unmittelbar vor der Verbrennung zu zerdrücken. Bei leicht flüchtigen Flüssigkeiten ist das Verfahren nicht mehr anwendbar. *Lysyj* und *Zarembo*[6] bestimmen Schwefel in Flüssigkeiten, indem sie die Einwaage in kleine Gelatinekapseln, deren Blindwert vorher bestimmt wird, bringen und diese wie üblich in Filterpapier gewickelt verbrennen.

Das letztgenannte Verfahren konnten wir nicht erproben, da es uns nicht gelang, geeignete Gelatinekapseln zu bekommen. Die für pharmazeutische Zwecke im Handel befindlichen sind viel zu groß. Nach der von *Schöniger*[1] empfohlenen Arbeitsweise erhielten wir bei Flüssigkeiten mit Kp um 100° im Halbmikromaßstab (zirka 15 bis 20 mg Einwaage) nur selten brauchbare Werte. Beim Zerdrücken der Kapillare dringt die Flüssigkeit zu schnell durch das Filterpapier, kommt an die Finger und verdunstet. Diese unvermeidbaren Verluste wirken sich zu stark auf das Ergebnis aus.

Dagegen erhielten wir bei Flüssigkeiten mit Kp $> 200°$ einwandfreie Ergebnisse auch ohne Anwendung einer Kapillare. Wir legten auf das für feste Substanzen übliche Filterpapier ein kleineres (zirka 10×10 mm), doppelt gefaltetes Stück Filterpapier und gaben darauf die meist aus nur einem Tropfen bestehende Einwaage, die sofort aufgesaugt wird.

Die Weiterbehandlung erfolgt wie bei der Verbrennung fester Stoffe. Für tiefer siedende Flüssigkeiten benutzten wir kleine, möglichst dünnwandige Kügelchen (zirka 5 bis 7 mm Durchmesser) mit einseitigem Kapillarrohr von zirka 10 mm Länge. Das Kügelchen wird leer gewogen, mit einer Pinzette am Kapillarrohr gefaßt, kurz durch eine Flamme gezogen und mit der Kapillare in die Flüssigkeit eben eingetaucht. Nachdem zirka 15 mg Flüssigkeit eingesaugt wurden, wird die Kapillare mit einem Mikrobrenner zugeschmolzen und erneut gewogen. Zur Verbrennung benutzten wir 500-ml-Erlenmeyerkolben, an deren Schliffstopfen ein am Ende zur Spirale geformter Platindraht (zirka 1 mm Durchmesser) befestigt ist. Das Kügelchen mit der Einwaage wird in das übliche Filterpapier gewickelt und in die Spirale eingesteckt. Im Gegensatz zu *Schöniger*[1] *zerdrückten* wir das Kügelchen vor der Zündung des Filterpapieres *nicht*. Wir fanden, daß die Glaskugel praktisch immer durch die Verbrennung des Filterpapieres und den Dampfdruck der eingeschlossenen Flüssigkeit an einer Stelle aufgetrieben wird bzw. schmilzt, wodurch der Dampf der Flüssigkeit austritt und schnell und restlos verbrennt. Unter einer großen Zahl von Verbrennungen passierte es uns bisher nur ein einziges Mal (und zwar bei Trialkylphosphat), daß die Glaskugel platzte und durch plötzliche Drucksteigerung auch der Verbrennungskolben zersprang. Es ist daher anzuraten, bei der Durchführung der Verbrennung einen Augenschutz zu tragen.

In der beigefügten Tabelle* sind die Analysenergebnisse einiger flüssiger organischer Halogenverbindungen zusammengestellt. Da die Substanzen nicht alle analysenrein waren, wurde der Halogengehalt zum Vergleich auch nach einem von *Hintzsche*[10] modifizierten Grote-Krekeler-Verfahren (Verbrennung im Sauerstoffstrom in einer Quarzapparatur) bestimmt. Im Anschluß an die Verbrennung wurde Chlor in der Absorptionslösung potentiometrisch mit $AgNO_3$ titriert, während Brom jodometrisch nach *van der Meulen*[11] bestimmt wurde.

Die Tabelle zeigt, daß unabhängig vom Kochpunkt der Flüssigkeit die nach unserem Verfahren bestimmten Mittelwerte mit den theoretischen bzw. den nach *Hintzsche*[10] bestimmten Werten innerhalb der üblichen Fehlergrenze des Schöniger-Verfahrens von $\pm$ 0,3% abs. übereinstimmen. Auch ist die Streuung der Einzelwerte kaum größer als bei der Anwendung des Schöniger-Verfahrens auf feste Stoffe. Dagegen zeigt die Tabelle weiterhin, daß die Anwendbarkeit des Verfahrens durch die Höhe des Halogengehaltes begrenzt wird. Bei Halogengehalten ab zirka 80% wird die Verbrennung unvollständig und man erhält stark streuende und zu tiefe Ergebnisse.

* Frl. *Helga Reuter* danke ich für ihre sorgfältige experimentelle Mitarbeit.

Tabelle 1. Bestimmung von Chlor und Brom in flüssigen Substanzen nach *Schöniger*

Substanz	Kp °C/Torr	% Halogen theor.	% Halogen nach *Hintzsche*	% Halogen nach *Schöniger*			
				Einzelwerte			Mittel
Oxalylchlorid	63,5	55,9	55,9	55,9	56,1	56,0	56,0
				56,1	56,0		
Propylbromid	71	65,0	64,5	64,5	65,1	64,6	64,8
				65,1	64,5		
Trichloräthylen	87	81,0	80,3	60,0	58,5	58,6	—
				41,6	77,4		
n-Butylbromid	102	58,4	58,3	57,9	57,9	58,0	58,0
				58,2	58,1		
Tetrachloräthylen	121	85,5	84,7	77,5	30,0	68,5	—
				76,6	27,2	85,0	
n-Amylbromid	130	52,9	52,9	52,7	52,8	53,1	52,9
				53,0	52,9		
Äthylenbromid	132	85,1	84,7	81,9	76,0	67,6	—
				50,0	77,0		
n-Heptylbromid	176	44,6	44,6	44,6	44,4	44,6	44,6
				44,7	44,5	44,5	
Benzylchlorid	179	28,1	27,9	27,8	28,0	27,8	28,0
				28,2	28,0	28,0	
o-Dichlorbenzol	179,5	48,3	47,8	47,5	47,9	47,6	47,7
				47,9	47,7	47,8	
n-Octylbromid	198	41,4	41,4	41,4	41,6	41,2	41,4
				41,6	41,5	41,2	
o-Chloranilin	207	27,8	27,3	27,2	27,4	27,2	27,3
				27,3	27,4		
β-Brompropionsäure-äthylester	112/44	44,2	44,1	44,1	44,1	44,2	44,1
				44,0	44,1		
n-Hexadecylchlorid	186/16	13,6	13,6	13,4	13,4	13,4	13,4
				13,3	13,5	13,5	

Zusammenfassung

Am Beispiel der Halogenbestimmung im Halbmikromaßstab wird gezeigt, daß sich das Schöniger-Verfahren durch eine einfache Modifikation auch auf flüssige Substanzen anwenden läßt. Nur bei sehr hohem Halogengehalt versagt die Methode.

Summary

By means of the halogen determination on the semi-micro scale, it is shown that the Schöniger procedure can be used also on liquid substances

if a simple modification is employed. The method fails only when the halogen content is very high.

Résumé

Des exemples de semi microdosages des halogènes par la technique de Schöniger montrent qu'une simple modification permet de l'appliquer également à des substances volatiles. Elle n'est mise en échec que pour les substances à très haute teneur en halogènes.

Literatur

[1] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 123.
[2] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 869.
[3] *L. Erdey, L. Mázor* und *T. Meisel*, Mikrochim. Acta [Wien] **1958**, 140.
[4] *M. Boëtius, G. Gutbier* und *H. Reith*, Mikrochim. Acta [Wien] **1958**, 321.
[5] *K. D. Fleischer, B. C. Southworth, J. H. Hodecker* und *M. M. Tuckermann*, Analyt. Chemistry **30**, 152 (1958).
[6] *J. Lysyj* und *J. E. Zarembo*, Analyt. Chemistry **30**, 428 (1958).
[7] *R. Belcher* und *A. M. G. Macdonald*, Talanta **1**, 185 (1958).
[8] *W. Merz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 456.
[9] *R. Bennewitz* und *J. Tänzer*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 835.
[10] *E. Hintzsche*, Chem. Techn. **9**, 355 (1957).
[11] *J. H. van der Meulen*, Chem. Weekbl. **28**, 82 (1931); *I. M. Kolthoff*, Die Maßanalyse, 2. Aufl. Berlin: 1931. S. 398.

Aus dem Laboratorium Dr. V. Anger, Wien XVIII

Ein neuer mikrochemischer Nachweis von Nitrosoverbindungen

Von

V. Anger

(Eingegangen am 15. Juni 1959)

Diphenylbenzidin in konz. Schwefelsäure wird durch eine Reihe von Oxydationsmitteln in eine blaue, chinoide Verbindung übergeführt. Oxydierend wirken Salpetersäure, salpetrige Säure, Halogensauerstoffsäuren, Wasserstoffperoxyd, Chromsäure, Eisen(III)-salze u. a. m. Organische Verbindungen wie Nitroderivate oxydieren im allgemeinen Diphenylbenzidin-Schwefelsäure nicht, wohl aber Ester der Salpetersäure und der salpetrigen Säure sowie organische Verbindungen mit aktivem Chlor (Toluolsulfochloramid, Chinonchlorimine). Es wurde gefunden, daß auch andere organische Verbindungen eine Blaufärbung der Diphenylbenzidin-Schwefelsäure bewirken können, wenn die Schwefelsäure eine etwas geringere Konzentration aufweist, so eine Reihe von Chinonen[1]. Weiters vermögen organische Nitrosoverbindungen Lösungen von Diphenylbenzidin in 85%iger Schwefelsäure zu bläuen, besonders bei Erwärmen im siedenden Wasserbad.

Es lag nahe zu vermuten, daß diese Reaktion auf der Abspaltung salpetriger Säure beruhen würde, obwohl eine solche bis jetzt nicht festgestellt wurde.

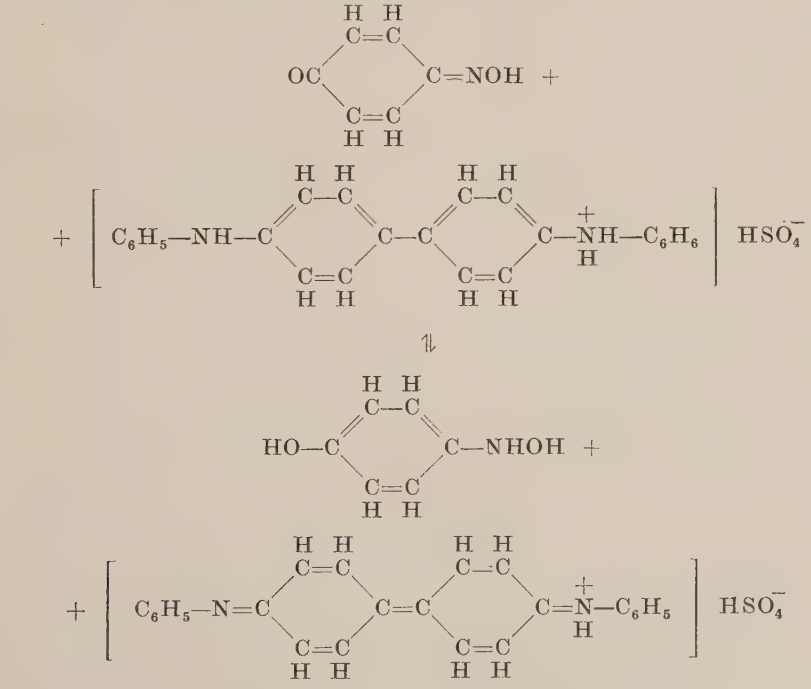
Um diese Frage zu entscheiden, wurde die Reaktion organischer Nitrosoverbindungen mit Brucin-Schwefelsäure untersucht. Lösungen von Brucin in konz. Schwefelsäure, aber auch die in 85%iger Schwefelsäure geben mit Nitraten eine rote bis orangegelbe Farbreaktion, mit Kaliumbromatlösung dagegen keinerlei Reaktion. Beruhte die Umsetzung organischer Nitrosoverbindungen mit Diphenylbenzidin-Schwefelsäure auf der Abspaltung von salpetriger Säure, so müßten diese Verbindungen mit Brucin-Schwefelsäure unter gleichen Bedingungen ebenfalls eine Farbreaktion geben. Dies ist aber, wie sorgfältige Versuche ergeben haben, nicht der Fall.

Die weitgehende Analogie mit der Reaktion der Chinone mit dem gleichen Reagens läßt darauf schließen, daß es sich hier um die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen der Nitrosoverbindung und dem Diphenylbenzidin einerseits und der entsprechenden Hydroxylaminverbindung und dem chinoiden Diphenylbenzidinblau anderseits handelt. Dafür sprechen auch die mit verschiedenen Nitrosoverbindungen erhaltenen Erfassungsgrenzen. Die der eindeutigen Nitrosoverbindungen liegen untereinander gleich, diejenige des p-Nitrosophenols, das mit p-Benzochinonmonoxim desmotrop ist, ist annähernd gleich mit den Erfassungsgrenzen der p-Benzochinone; die Erfassungsgrenzen der o-Nitrosonaphthole, die mit den o-Chinonmonoximen desmotrop sind, liegen wesentlich niedriger und sind mit denen der o-Naphthochinone vergleichbar.

Es wird daher folgende Reaktionsgleichung angenommen:

$$R{-}NO + C_6H_5{-}NH{-}C_{12}H_8{-}NH{-}C_6H_5 = R{-}NHOH + \\ + C_6H_8H_5{-}N{=}C_{12}H_8{=}N{-}C_6H_5.$$

Für die chinoiden, aromatischen Nitrosoverbindungen, z. B. p-Nitrosophenol, wäre die Reaktionsgleichung:



Diese Reaktion findet nicht statt bei Isonitrosoverbindungen, die ihrem ganzen Charakter nach Oxime sind, wie z. B. Isonitrosocampher.

Die beschriebene Farbreaktion zwischen organischen Nitrosoverbindungen und Diphenylbenzidin-Schwefelsäure läßt sich zu einem einfachen Nachweis aromatischer, heterocyklischer und tertiär-aliphatischer Nitrosoderivate verwenden. Das geeignete Reagens wird durch Auflösen von 10 mg Diphenylbenzidin in 10 ml Schwefelsäure (3 Volumteile konz. Schwefelsäure p. a. und 1 Volumteil dest. Wasser) bereitet.

Ausführung des Nachweises von Nitrosoverbindungen

Ein Tropfen der Probelösung bzw. eine Spur der festen Probe wird in einer Eprouvette oder besser noch in einer Mikroeprouvette mit zirka $^1/_2$ ml Reagens versetzt und, falls nicht sofort Blaufärbung eintritt, kurze Zeit im siedenden Wasserbad erwärmt, wobei eine mehr oder weniger intensive Blaufärbung eintritt.

Störend wirken stark oxydierende Substanzen, wie Nitrate, Nitrite, Chlorate, Bromate, Ester der Salpetersäure und der salpetrigen Säure, organische Verbindungen, die aktives Chlor enthalten („Chloramin" Heyden), und eine Reihe von Chinonen.

Die mit dieser Reaktion erzielbaren Erfassungsgrenzen sind der nachstehenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 1

Nitrosoverbindungen	Erfassungsgrenze μg
Nitrosobenzol	1
p-Nitrosodimethylanilin	1
Nitrosoantipyrin	2
p-Nitrosophenol	0,2
5-Nitroso-8-hydroxychinolin	0,4
p-Nitrosophenylhydroxylamin	30
1-Nitroso-2-Naphthol	20
2-Nitroso-1-Naphthol	10
Isonitrosocampher	keine Reaktion

Zusammenfassung

Diphenylbenzidin in 85%iger Schwefelsäure wird durch Nitrosoverbindungen zu einem blauen chinoiden Farbstoff oxydiert. Die Oxydation bewirkt die Nitrosogruppe, nicht etwa abgespaltene salpetrige Säure. Mit dieser Reaktion lassen sich bei Ausführung als Tüpfelnachweis Nitrosoverbindungen in Mengen von etwa 1 μg nachweisen. Alle echten Nitrosoverbindungen geben diese Reaktion, nicht aber die als Oxime aufzufassenden Isonitrosoverbindungen.

Summary

Nitroso compounds oxidize diphenylbenzidine in 85% sulfuric acid to yield a blue quinoidal dyestuff. The oxidation is due to the nitroso group, and not to nitrous acid which may be split off. This reaction is the basis of a spot test for nitroso compounds; it will reveal around 1 μg. All true nitroso compounds give this reaction, but not isonitroso compounds, which can be regarded as oximes.

Résumé

La diphénylbenzidine en solution dans l'acide sulfurique à 85% s'oxyde en donnant naissance à une matière colorante quinoïde bleue par réaction sur des combinaisons nitrosées. Cette oxydation est produite par les groupements nitrosés et non pas par l'acide nitreux qui s'est éventuellement formé. Cette réaction permet d'identifier les combinaisons nitrosées en quantités d'environ 1 μg par réaction à la touche. Toutes les combinaisons nitrosées vraies fournissent cette réaction mais non pas les combinaisons isonitrosées qui peuvent être considérées comme des oximes.

Literatur

[1] *V. Anger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 386.

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

Zur Kenntnis der anomalen Reaktionen bei der Aminostickstoffbestimmung. VIII. Die Anomalie einiger Aminosäuren*

Von

Gerald Kainz und Franz Kasler

Mit 8 Abbildungen

(Eingegangen am 17. Juni 1959)

Es ist seit längerem bekannt, daß einige Aminosäuren, wie Glycin, Serin, Threonin, Cystin, Tyrosin und Tryptophan, bei der Aminostickstoffbestimmung mit salpetriger Säure ein höheres Gasvolumen geben, als theoretisch zu erwarten wäre (vgl. [2]). Wie dieses Mehrvolumen zustande kommt, darüber ist — mit Ausnahme von Glycin — bis jetzt kaum etwas bekannt.

Nachdem wir[3] kürzlich, aufbauend auf den Arbeiten *Austins*[4], bei Glycin eine weitgehende Aufklärung der gasbildenden Reaktionsfolge erreichen konnten, versuchten wir nun, auch bei anderen Aminosäuren einen Einblick in die anomale Reaktion zu erhalten.

Zur Orientierung haben wir zunächst verschiedene Aminosäuren mit salpetriger Säure umgesetzt und die entstandenen gasförmigen Reaktionsprodukte chromatographiert. Damit allfällige Anomalien besser zum Vorschein treten, haben wir die Reaktion bei 80° C durchgeführt und Zusätze, die zur Verminderung der Anomalien vorgeschlagen wurden (vgl. *Kainz* und *Schöller*[5]), weggelassen. Tabelle 1 zeigt die Gasmengen (in Mol), die bei der anomalen Reaktion entstehen.

Besonders überraschend ist, daß in der Tabelle auch Aminosäuren aufscheinen, von denen man bisher annahm, daß sie mit salpetriger Säure *keine* anomale Reaktion geben, so z. B. α-Alanin, β-Alanin und Lysin. Alle Aminosäuren lieferten 0,30 bis 0,35 Mol Kohlendioxyd oder ein Vielfaches davon, während die N_2- und N_2O-Mengen stark schwankten.

* 7. Mitteilung: Anomalie der Sulfonsäureamide[1].

Tabelle 1

	N_2O	N_2	CO_2
Glycin	0,42	0,26	0,78
α-Alanin	0,22	0,09	0,33
β-Alanin	0,37	0,07	0,70
Serin	0,30	0,10	0,37
Threonin	0,30	0,12	0,41
Lysin	0,50	0,17	0,37
Tyrosin	0,97	0,66	1,33
Tryptophan	0,53	1,07	0,71
Cystin	1,78	0,48	0,70

Nach diesem Überblick haben wir uns eingehend mit den einzelnen Aminosäuren befaßt.

α-Alanin

Wie in den vorhergehenden Arbeiten ermittelten wir zunächst die Temperaturabhängigkeit der Reaktion von α-Alanin mit salpetriger Säure. Abb. 1 zeigt die erhaltenen Werte; von der N_2-Menge wurde 1 Mol für die primäre Aminogruppe abgezogen, so daß nur die N_2-Menge aus der anomalen Reaktion aufscheint. Demnach entstehen relativ wenig N_2 und N_2O. Darauf dürfte es zurückzuführen sein, daß man diese Anomalie bisher übersehen hat. Die CO_2-Entwicklung setzt hingegen schon bei 20° C mit 0,3 Mol ein und bleibt über den untersuchten Temperaturbereich konstant.

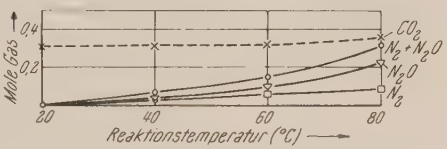
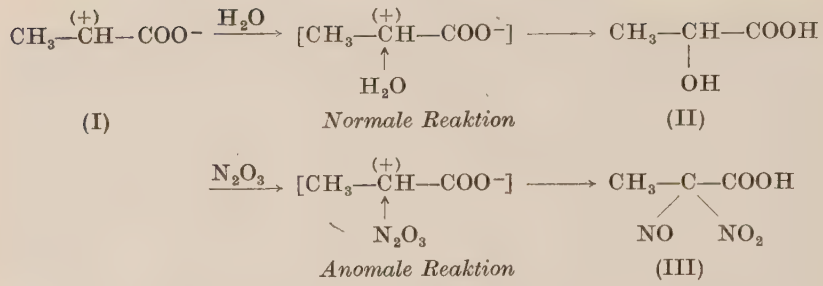
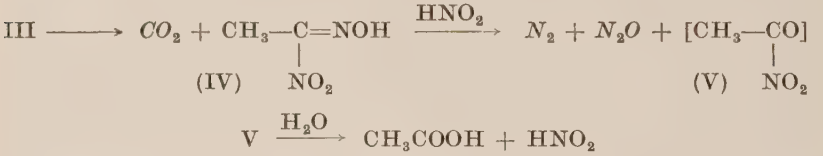


Abb. 1. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von α-Alanin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

Es war nun fraglich, wie die anomale Gasentwicklung zustande kommt. Ein Anhaltspunkt über die mögliche Reaktion war dadurch gegeben, daß das obige Diagramm dem von Glycin (vgl. *Kainz*, *Kasler* und *Huber*[3], Abb. 2) ähnlich ist; allerdings geht die Reaktion bei Glycin wesentlich leichter vonstatten. Ein anderer Anhaltspunkt fand sich in der Arbeit von *Austin*[4], der vermutete, daß sich nicht nur bei der Desaminierung von Glycin, sondern auch bei der Desaminierung der übrigen α-Aminosäuren eine Nitrolsäure bildet, die unter Gasentwicklung zerfällt. *Austin* gelang es allerdings nicht, diese Annahme bei den übrigen α-Aminosäuren zu verifizieren. Unsere in Abb. 1 dargestellten Befunde machen nun die Annahme von *Austin* sehr wahrscheinlich. Für α-Alanin wäre folgender Reaktionsverlauf anzunehmen:



Die primäre Aminogruppe des α-Alanins wird durch salpetrige Säure in eine Diazoniumgruppe übergeführt. Diese ist unbeständig und spaltet sofort 1 Mol Stickstoff ab. Hierdurch entsteht vorübergehend ein Carbeniumkation (I). An die Elektronenlücke von I lagert sich zum Teil Wasser als Dipolmolekül an. Unter Wanderung eines Protons bildet sich daraus α-Hydroxypropionsäure (II). Dies ist die normale Reaktion. Es kann sich aber auch N_2O_3 anlagern. Unter Wanderung eines Protons entsteht dann *α-Nitroso-nitropropionsäure* (III). Sie ist der *Ausgangspunkt für die anomale Reaktion.*



$$V \xrightarrow{H_2O} CH_3COOH + HNO_2$$

Verbindung III besitzt an einem C-Atom drei negative Gruppen; sie ist unbeständig und geht unter CO_2-Abspaltung in Verbindung IV (Äthylnitrolsäure) über. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, wird diese Stufe bereits bei 20° C erreicht und läuft zu etwa 33% ab.

Nach unseren bisherigen Befunden[6] werden Verbindungen mit einer Isonitrosogruppe von salpetriger Säure unter Entwicklung eines Mols ($N_2 + N_2O$) zur entsprechenden Carbonylverbindung abgebaut. Der Abbau kann jedoch erschwert sein, wenn sich in der Nachbarschaft zur Isonitrosogruppe eine elektronenanziehende Gruppe, wie z. B. eine Nitrogruppe, befindet (*Kainz, Kasler* und *Huber*[7]). Dies ist bei Verbindung IV der Fall. Daraus erklärt sich auch die stark verzögerte Gasbildung bei Alanin. Durch den Abbau von IV entsteht die Carbonylverbindung V, die in wäßriger Lösung sofort zu Essigsäure und salpetriger Säure zerfällt.

Auf Grund dieses Reaktionsschemas wären gleiche Mengen ($N_2 + N_2O$) und CO_2 zu erwarten. Dies stimmt mit den bei 80° C gefundenen Werten gut überein. Unterhalb dieser Temperatur bleibt jedoch die ($N_2 + N_2O$)-Menge hinter der CO_2-Menge zurück, was durch den erschwerten Abbau

von Äthylnitrolsäure (IV) bedingt ist. Aus den gefundenen Gasmengen läßt sich errechnen, daß die anomale Reaktion zu etwa 33% (berechnet aus dem CO_2-Wert) bzw. zu 30% [berechnet aus dem ($N_2 + N_2O$)-Wert] abläuft.

β-Alanin

Auch bei dieser Verbindung haben wir zuerst die Temperaturabhängigkeit der Reaktion mit salpetriger Säure geprüft (Abb. 2). Wir ersehen daraus, daß ein wesentlicher Unterschied gegenüber α-Alanin besteht. Die CO_2-Menge beträgt bei 20° C nur 0,06 Mol. Bei 50° C steigt sie stark an und erreicht bei 80° C 0,71 Mol. Auch die N_2O-Menge ist in ähnlicher Weise temperaturabhängig. Lediglich der N_2-Wert bleibt im Vergleich zu α-Alanin zurück, doch erklärt sich dies durch die unvollständige Reaktion der β-Aminogruppe. Da im Diagramm nur jene N_2-Menge eingetragen ist, die 1 Mol übersteigt, verursacht die unvollständige Reaktion der β-Aminogruppe ein unrichtiges Bild von den anomalen N_2-Werten.

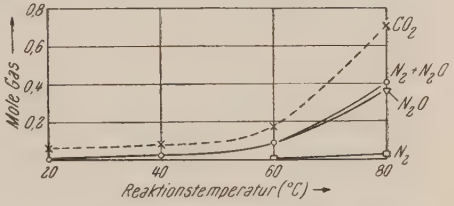
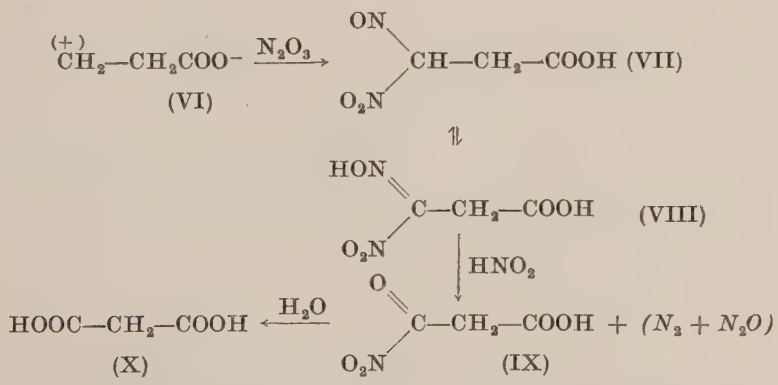


Abb. 2. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von β-Alanin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

In Analogie zu α-Alanin scheint folgender Reaktionsweg wahrscheinlich:



Durch Einwirkung salpetriger Säure auf die β-Aminogruppe bildet sich zunächst ein Diazoniumsalz, das unter Abspaltung von N_2 in ein Carbeniumkation (VI) übergeht. Bei der anomalen Reaktion lagert sich N_2O_3 an und es entsteht *β-Nitroso-nitropropionsäure* (VII), die im Gegensatz zur α-Verbindung kein CO_2 abspaltet. Durch Umlagerung entsteht Verbindung VIII, deren Isonitrosogruppe bei erhöhter Temperatur

(vgl. oben) unter Bildung eines Mols ($N_2 + N_2O$) zu Verbindung IX führt. Diese wird durch Wasser zu *Malonsäure* (X) hydrolysiert.

Wie wir an anderer Stelle[7] gezeigt haben, gehört Malonsäure zu den Verbindungen, die eine starke anomale Gasentwicklung geben (bei 80° C: 2,6 Mole CO_2, 0,93 Mol N_2O und 0,62 Mol N_2). Bei Richtigkeit dieses Reaktionsschemas mußte also die anomale Gasmenge bei β-Alanin beträchtlich ansteigen. Dies finden wir in Abb. 2 bestätigt. Weiters mußte β-Alanin bei 80° C dieselbe Zusammensetzung des Reaktionsgases ergeben wie Malonsäure. Dies trifft auch für CO_2 und N_2O zu. Eine Ausnahme macht nur Stickstoff, dessen Abweichung wir oben begründet haben. Wir können darüber hinaus sogar errechnen, daß die anomale Reaktion zu 27% (berechnet aus dem CO_2-Wert) bzw. 23% (berechnet aus dem N_2O-Wert) abläuft. Das Ausmaß der anomalen Reaktion ist demnach bei β-Alanin etwas geringer als bei α-Alanin.

Serin und Threonin

Die Abb. 3 und 4 zeigen die Gasentwicklung bei der Reaktion dieser Verbindungen mit salpetriger Säure bei verschiedenen Temperaturen.

Abb. 3. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Serin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

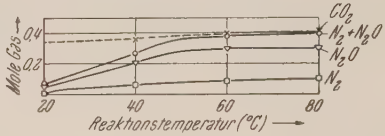
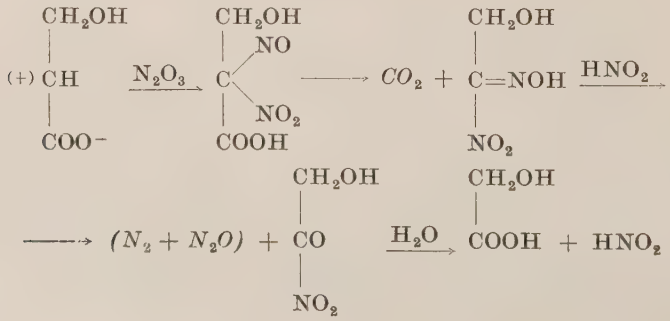


Abb. 4. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Threonin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

Die Gasmengen liegen gegenüber α-Alanin bei 80° C geringfügig höher. Unterschiedlich ist hingegen, daß das Maximum der Gasentwicklung mit Serin bei 40° C und mit Threonin bei 50° C erreicht wird, während bei Alanin 80° C nötig sind. Die Formulierung der anomalen Reaktion führt zu folgendem Schema:



Dabei sollen gleiche Mengen von ($N_2 + N_2O$) und CO_2 entstehen. Dies wird durch das Experiment bestätigt.

Lysin

Wie Abb. 5 zeigt, entsteht bei Lysin dieselbe CO_2-Menge wie bei den übrigen α-Aminosäuren. Hingegen erreichen die Werte von N_2 und N_2O etwa den doppelten Wert von α-Alanin. Wir können den Reaktionsverlauf folgendermaßen formulieren:

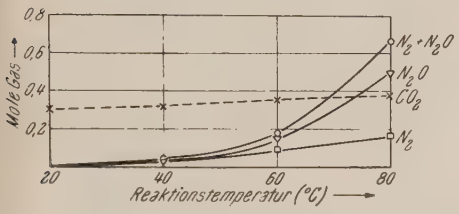


Abb. 5. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Lysin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

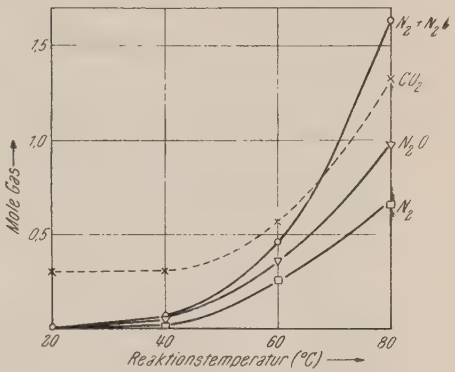
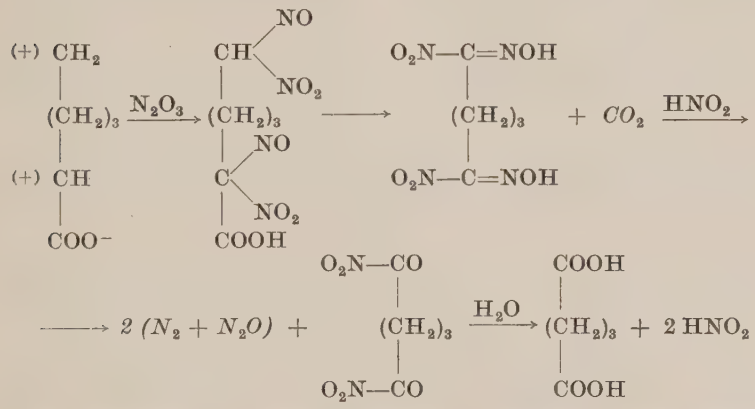


Abb. 6. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Tyrosin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)



Die α-Aminogruppe führt in anomaler Reaktion zu einer Nitrolsäure. An Stelle der ε-Aminogruppe tritt bei der Desaminierung ebenfalls eine Nitrolsäuregruppe. Diese Gruppen werden bei erhöhter Temperatur unter Entwicklung zweier Mole ($N_2 + N_2O$) abgebaut. Vorübergehend entsteht eine Nitroketoverbindung, die zur Dicarbonsäure hydrolysiert wird.

Tyrosin

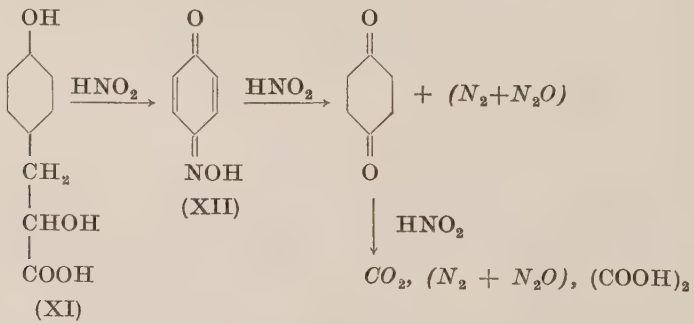
Abb. 6 zeigt, daß Tyrosin ein wesentlich anderes Diagramm liefert als die bisher untersuchten α-Aminosäuren. Bei genauer Betrachtung

sieht man aber, daß sich dieses Diagramm im Bereich von 20 bis 40° C mit dem des α-Alanins deckt. Dies bedeutet, daß in diesem Bereich fast ausschließlich die Anomalie der α-Aminogruppe vorherrscht. Oberhalb 40° C setzt jedoch ein starker Anstieg der Gasmengen ein, der zweifellos durch die Phenolgruppierung verursacht wird.

In früheren Untersuchungen[8] haben wir uns mit der Reaktion der Phenole mit salpetriger Säure beschäftigt und gesehen, daß Monophenole eine verhältnismäßig geringe Gasmenge liefern, während Diphenole und Phenolcarbonsäuren ein wesentlich höheres Gasvolumen geben. Wir konnten auch zeigen, daß die gasbildende Reaktion durch Nitrosierung des Phenols in p-Stellung eingeleitet wird. Das entstandene Nitrosophenol gibt mit salpetriger Säure teilweise Diazophenol; unter N_2-Entwicklung entsteht daraus Hydrochinon, das sofort zum Chinon oxydiert wird. Teilweise lagert sich Nitrosophenol zum p-Chinonoxim um; dieses wird durch salpetrige Säure unter Entwicklung von N_2O und N_2 zum p-Chinon abgebaut. Das in beiden Fällen entstehende Chinon ist in salpetriger Säure ebenfalls unbeständig und wird unter Entwicklung reichlicher Mengen N_2 und N_2O zu CO_2 und Oxalsäure abgebaut.

Kürzlich fand nun *Tedder*[9], daß sich auch bei der Reaktion von p-Hydroxybenzoesäure sowie p-Hydroxyzimtsäure mit salpetriger Säure Diazophenol als Hauptmenge bildet. Hierbei wird die Seitenkette am Benzolkern durch salpetrige Säure abgespaltet. Das entstandene Diazophenol bzw. dessen Vorstufe, das Nitrosophenol, wird, wie wir oben gezeigt haben, unter den Bedingungen der Aminostickstoffbestimmung unter Gasentwicklung abgebaut.

Es war naheliegend, daß diese Reaktion auch bei Tyrosin vor sich geht. Der Ausgangspunkt für diese Reaktion wäre einerseits die in normaler Reaktion entstehende p-Hydroxybenzolmilchsäure (XI), anderseits die in anomaler Reaktion entstehende p-Hydroxybenzolessigsäure (vgl. Reaktionsschema bei α-Alanin). Der mögliche Reaktionsvorgang ist bei p-Hydroxybenzolmilchsäure dargestellt.



Unter dem Einfluß salpetriger Säure würde demnach zuerst die Seitenkette abgesprengt, wobei sich p-Nitrosophenol bzw. Chinonoxim (XII) bildet. Dieses gibt bei weiterer Reaktion mit salpetriger Säure N_2 und N_2O sowie p-Benzochinon. Dieses wird verhältnismäßig leicht zu CO_2 und Oxal-

säure abgebaut. Auch bei dieser Reaktion entstehen N_2 und N_2O. Aus den gefundenen Gasmengen haben wir errechnet, daß die Chinonstufe zu etwa 75% durchlaufen wird.

Cystin

Cystin gibt nach Abb. 7 höhere Gasmengen, als auf Grund der beiden α-Aminogruppen zu erwarten wäre; vor allem fällt der hohe N_2O-Wert (1,79 Mol) auf.

Wir haben nun früher[10] gezeigt, daß Schwefelverbindungen, die durch salpetrige Säure oxydierbar sind, in reichlicher Menge N_2O liefern. Dies ist zweifellos auch bei Cystin der Fall. Fraglich war nur, wie groß die N_2O-Menge ist, die von der Oxydation der Disulfidgruppierung herrührt. Um dies zu ermitteln, haben wir Cysteinsäure (XIII) hergestellt und mit salpetriger Säure behandelt. Nach Abb. 8 gibt diese Verbindung ein ähnliches Diagramm wie α-Alanin, doch liegen alle Gasmengen

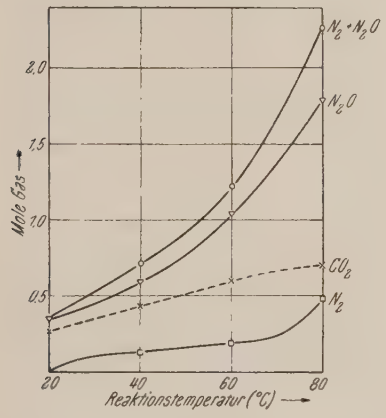


Abb. 7. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Cystin mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

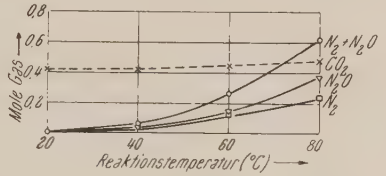
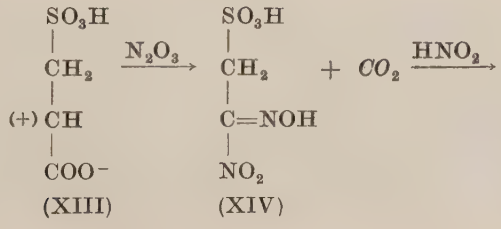
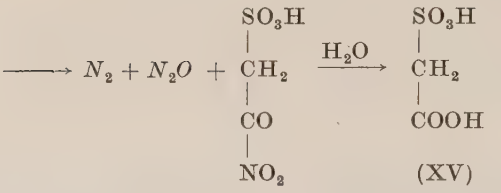


Abb. 8. Anomale Gasmengen bei der Reaktion von Cysteinsäure mit HNO_2 (30%ige Nitritlösung)

etwas höher. Formuliert man die Reaktion wie bei den anderen Aminosäuren, so sieht man, daß sich aus der Nitrolsäure (XIV) Verbindung XV bildet, die eine aktive Methylengruppe aufweist. An dieser Stelle greift nun nochmals salpetrige Säure an; es entsteht eine Isonitrosoverbindung, die unter Entwicklung von N_2 und N_2O zur Carbonylverbindung abgebaut wird.





(XV)

Zieht man die zweifachen Gasmengen, die bei Cysteinsäure erhalten wurden, von den Gasmengen der Abb. 7 (Cystin) ab, so bleiben 1,05 Mol N_2O übrig. Nach allem ist diese Gasmenge der Oxydation der Disulfidgruppierung zuzuschreiben. Demnach überlagern sich bei Cystin zwei anomale Reaktionsfolgen: a) die anomale Reaktion der intermediär entstehenden Nitrolsäure und b) die anomale Reaktion der Disulfidgruppierung.

Experimentelles

Alle in den Abbildungen wiedergegebenen Werte wurden nach Methoden erhalten, die von uns bereits früher[6,10] im Detail beschrieben wurden.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einen Einblick in die bisher ungeklärte anomale Reaktion verschiedener Aminosäuren mit salpetriger Säure zu gewinnen. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß bei der Desaminierung der Aminosäuren nicht nur eine Hydroxyverbindung entsteht, sondern auch die entsprechende Nitrolsäure. Bei den α-Aminosäuren wird dabei Kohlendioxyd in Freiheit gesetzt. Das Ausmaß der Bildung von Nitrolsäure hängt von der Konzentration der Nitritlösung ab; unter den Bedingungen der Aminostickstoffbestimmung entstehen etwa 30%. Die Nitrolsäure ist der Ausgangspunkt für die anomale Gasentwicklung. Bei Temperaturerhöhung reagiert nämlich die Isonitrosogruppe der Nitrolsäure mit salpetriger Säure, wobei unter Entwicklung von N_2 und N_2O die entsprechende Carbonylverbindung entsteht. Bei Tyrosin bilden sich noch zusätzliche Gasmengen infolge der anomalen Reaktion der Phenolgruppierung. Bei Cystin rührt das Mehrvolumen von der Reaktion der Disulfidgruppierung mit salpetriger Säure her.

Summary

This study reports on an effort to gain an insight into the previously unexplained anomalous reaction of various amino acids with nitrous acid. It is made probable that not only is a hydroxyl compound formed during the deamination but also the corresponding nitrolic acid. In the case of α-amino acids, carbon dioxide is also liberated. The extent of the formation of nitrolic acid depends on the concentration of the nitrite solution; under the conditions of the amino nitrogen determination about 30% is produced. The nitrolic acid is the starting point for the anomalous production of gas.

When the temperature is increased, the isonitroso group of the nitrolic acid reacts with nitrous acid, and the corresponding carbonyl compound results along with evolution of N_2 and N_2O. In the case of tyrosine, additional amounts of gas arise because of the anomalous reaction of the phenol grouping. In the case of cystine, the excess volume comes from the reaction of the disulfide grouping with nitrous acid.

Résumé

Dans le présent travail les auteurs cherchent à éclaircir les réactions anormales de différents aminoacides sur l'acide nitreux. Ils ont établi selon toute vraisemblance que lors de la désamination des aminoacides il ne se forme pas seulement une combinaison hydroxylée mais également l'acide nitrolique correspondant. Lors de cette réaction les α-amino-acides libèrent de l'anhydride carbonique. L'importance de la formation d'acide nitrolique dépend de la concentration de la solution nitreuse; dans les conditions de la détermination de l'azote aminé il s'en forme environ 30%. L'acide nitrolique constitue le point de départ des dégagements gazeux anormaux. Lors d'une élévation de température le groupement isonitrosé de l'acide nitrolique réagit notamment avec l'acide nitreux en donnant naissance à la combinaison carbonylée correspondante avec dégagement simultané de N_2 et N_2O. Avec la tyrosine il se forme en outre des quantités de gaz supplémentaires dues à la réaction anormale du groupement phénol. Avec la cystine c'est la réaction du groupement disulfure sur l'acide nitreux qui donne lieu à un dégagement gazeux supplémentaire.

Literatur

[1] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien], **1960**, 38.

[2] *D. D. van Slyke*, in *E. Abderhaldens* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 1, Teil 7, S. 263. Wien: Urban & Schwarzenberg. 1925; s. auch *C. L. A. Schmid*, J. Biol. Chem. **82**, 587 (1929).

[3] *G. Kainz*, *F. Kasler* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien], **1959**, 883.

[4] *A. T. Austin*, J. Chem. Soc. London **1950**, 149.

[5] *G. Kainz* und *F. Schöller*, Z. physiol. Chem. **301**, 259 (1955).

[6] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 337.

[7] *G. Kainz*, *F. Kasler* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien], **1959**, 875.

[8] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien], **1959**, 891.

[9] *J. M. Tedder* und *G. Theaker*, J. Chem. Soc. London **1959**, 257.

[10] *G. Kainz* und *H. Huber*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 51.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der
L. Eötvös-Universität, Budapest

Über die katalytische Bestimmung von Mikromengen Kobalt neben Zink

Von

J. Laszlovszky

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 18. Juni 1959)

J. Bognár beschreibt in seinen Mitteilungen[1] etwa 80 in alkalischem Medium durch Spuren von Kobalt katalysierte Oxydationsprozesse, die von Farbänderungen gewisser organischer Verbindungen begleitet werden. Solche Verbindungen sind das Brenzcatechin und jene Alizarinderivate, die wenigstens zwei orthoständige OH-Gruppen enthalten, das heißt prinzipiell als Brenzcatechinderivate angesehen werden können. Die Oxydation von Brenzcatechin mit Natriumperborat wird schon bei Zimmertemperatur durch Kobaltspuren katalysiert, wobei das Reaktionsgemisch einen mit der Zeit sich verstärkenden rötlichen Farbton annimmt. Bei der ebenfalls durch Kobaltspuren, jedoch bei einer Temperatur von 90° C, katalysierten Oxydation von Alizarinderivaten mit Natriumperborat verblaßt bzw. verschwindet die rötliche Farbe der Lösung.

Von den erwähnten Reaktionen zeigt besonders die der Alizarinderivate mit Natriumperborat eine hohe Empfindlichkeit; mit ihrer Hilfe sind noch 10^{-6} µg Co in 5 ml Lösung verläßlich nachweisbar. Die Empfindlichkeit des Brenzcatechin-Natriumperborat-Systems ist etwas geringer, und zwar 10^{-3} µg Co in 5 ml Lösung. Jedoch gelang es *Bognár*, die Empfindlichkeit dieser Reaktion durch Zugabe von Komplexbildnern wie p-Toluidin, p-Anisidin, p-Phenetidin oder Di-o-anisidin bis zu einem Grenzwert von 10^{-5} µg Co/5 ml zu verbessern. Die zielbewußte Anwendung von Komplexbildnern zur Aktivierung von Katalysatoren wurde bereits von *L. Szebellédy* und *M. Ajtai*[2] in die Spurenanalyse eingeführt.

Die erwähnten katalytischen Reaktionen erwiesen sich auch für Zwecke der quantitativen Analyse als geeignet. Bei dem durch p-Toluidin

aktivierten Brenzcatechin-Natriumperborat-System kann die Farbänderung mit dem Photometer leicht verfolgt werden, da die Reaktion auch bei einer Temperatur von ungefähr 23° glatt verläuft. Zur Auswertung mißt man die Dauer der Reaktion vom Beginn bis zur Entwicklung einer bestimmten Farbintensität. Bezüglich der Grundprinzipien dieses Verfahrens wird auf die Arbeit von *Szebellédy* und *Ajtai*[3], bezüglich der Einzelheiten der Kobaltbestimmung auf die Veröffentlichungen von *J. Bognár*[1] verwiesen.

Es wäre umständlich, die Farbänderung des Systems Alizarin—Perborat photometrisch zu verfolgen, da diese Reaktion bei 90° C verläuft. Neben diesem scheinbaren Nachteil besitzt die Methode jedoch den unzweifelhaften Vorteil, daß der Ablauf der Reaktion nicht durch Farbintensitätsänderung, sondern durch das Auftreten einer Endfarbe angezeigt wird. Man kann nämlich den Verlauf der Reaktion mit Hilfe einer Vergleichslösung verfolgen, den Endpunkt visuell beobachten und die Reaktionsdauer somit verläßlich feststellen. Die Arbeitsweise wird im folgenden kurz zusammengefaßt.

Beschreibung des Verfahrens

Reagenzien (von analytischer Reinheit):
0,03%ige Lösung von Alizarin in 96%igem Äthanol;
gesättigte Natriumperboratlösung;
bidest. Wasser.

Bei den Messungen verwendeten wir zuvor mit konz. Schwefelsäure sorgfältig gereinigte, dann mit bidest. Wasser mehrmals gespülte Proberöhrchen aus farblosem Glas und von gleichem Durchmesser. Das Röhrchen wird mit 1,00 ml Alizarinlösung, 2,00 ml bidest. Wasser, 1,00 ml der zu untersuchenden, kobalthaltigen Lösung und 1,00 ml gesättigter Natriumperboratlösung beschickt, in einen auf 90 $\pm$ 0,1° C konstant gehaltenen Thermostat gebracht und die Stoppuhr in Gang gesetzt. Die violette Lösung wird langsam rot, dann orange, schließlich gelb. Die Zeiten bis die Lösung die gleiche Farbe wie die zum Vergleich dienende, auf gleiche Weise oxydierte Alizarinlösung angenommen hat, wird gemessen. Der Endpunkt ist mit Sicherheit zu erkennen.

Diskussion

Das Verfahren wurde von uns in Zusammenhang mit der Bestimmung des Kobaltgehaltes von Substanzen biologischen Ursprungs auch in Gegenwart störender Fremdionen, insbesondere von Zink, ausführlich untersucht. Zuerst haben wir die Auswertungsmethode des Verfahrens kontrolliert.

Nach *Bognár* kann die Auswertung des Kobaltgehaltes graphisch erfolgen, indem man den Logarithmus der Anzahl μg Co/ml Lösung gegen den Logarithmus der Reaktionsdauer in einem Koordinatensystem aufträgt. So ergibt sich nach den Versuchsdaten von *Bognár*[1] eine Gerade, die aber nur für Kobaltgehalte unter $10^{-2}\,\mu$g Co/ml gültig ist. Unsere Kontrollversuche bewiesen die Richtigkeit dieses Zusammenhanges.

Tabelle 1

Einwaage an Co		Reaktionsdauer	
μg	log μg	t sec	log t
10^1	1,00	> 360	
10^0	0,00	57,5, 72,0	1,76, 1,86
$8 \cdot 10^{-1}$	— 0,10	39,7, 41,3, 32,8	1,60, 1,62, 1,52
$5 \cdot 10^{-1}$	— 0,30	33,5, 46,1, 38,0	1,53, 1,66, 1,58
$3 \cdot 10^{-1}$	— 0,52	41,6, 39,0, 39,2	1,62, 1,59, 1,59
$2 \cdot 10^{-1}$	— 0,70	42,0, 41,4, 41,7	1,62, 1,62, 1,62
10^{-1}	— 1,00	51,0, 45,0, 48,1	1,71, 1,65, 1,68
10^{-2}	— 2,00	71,4, 69,0, 70,4	1,85, 1,84, 1,85
		75,5	1,87
10^{-3}	— 3,00	338, 308, 302	2,53, 2,49, 2,48
		311, 320	2,49, 2,51
10^{-4}	— 4,00	970, 972, 983	2,99, 2,99, 2,99
10^{-5}	— 5,00	2700	3,43

Nachdem aber auch bei Mengen über $10^{-2}\,\mu$g Co/ml eine katalytische Wirkung noch gut zu beobachten war, schien es zweckmäßig, den Zusammenhang auch in diesem Bereich zu untersuchen. Aus unseren diesbezüglichen Messungen (Tabelle 1 und Abb. 1) geht hervor, daß die Abhängigkeit zwischen Kobaltgehalt und Dauer der Katalyse in graphischer Darstellung eine Minimumkurve liefert, die über den Wert von 1 μg Co/ml nicht mehr zu verfolgen war.

Die Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit wird unserer Meinung nach dadurch hervorgerufen, daß eine die katalytische Wirkung hemmende Lackbildung in Gegenwart größerer Kobaltmengen in bedeutendem Maße zur Geltung kommt. Diesbezügliche Erfahrungen haben uns gelehrt, daß man bei der auf diesem Wege vorzunehmenden Kobaltbestimmung die Reaktionsdauer nicht nur mit der ursprünglichen, sondern auch mit der 10- und 100fach usw. verd. Stammlösung festzustellen hat, da bei einer Minimumkurve zum selben Kobaltwert zwei verschiedene Reaktionszeitwerte gehören können.

Die störende Wirkung von Fremdionen wurde in den schon erwähnten Mitteilungen von *Bognár*[1] vom *qualitativen* Gesichtspunkt ausführlich untersucht. Es wurde in bezug auf Zink festgestellt, daß sich in Gegenwart von 500 μg $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (≡ 114 μg Zn) ein Niederschlag bildet

und daher wahrscheinlich durch $10^{-4}\,\mu g$ Co/ml keine Katalyse mehr hervorgerufen wird. Um diese störende Wirkung zu beseitigen, wurde die Zugabe von 1 ml 0,1-n Natriumhydroxydlösung von *Bognár* für qualitative Untersuchungen vorgeschlagen.

Es ist unserer Meinung nach nicht zweckdienlich, den p_H-Wert des Redoxsystems bei *quantitativen* Messungen zu ändern, weil dadurch auch die Reaktionsdauer beeinflußt wird. Bei Spurenanalysen ist dabei immer die Gefahr vorhanden, mit den Reagenzien neue Verunreinigungen in das Reaktionsgemisch einzuschleppen. Deshalb wollten wir für die Beseitigung der störenden Wirkung des Zinks einen anderen Weg finden.

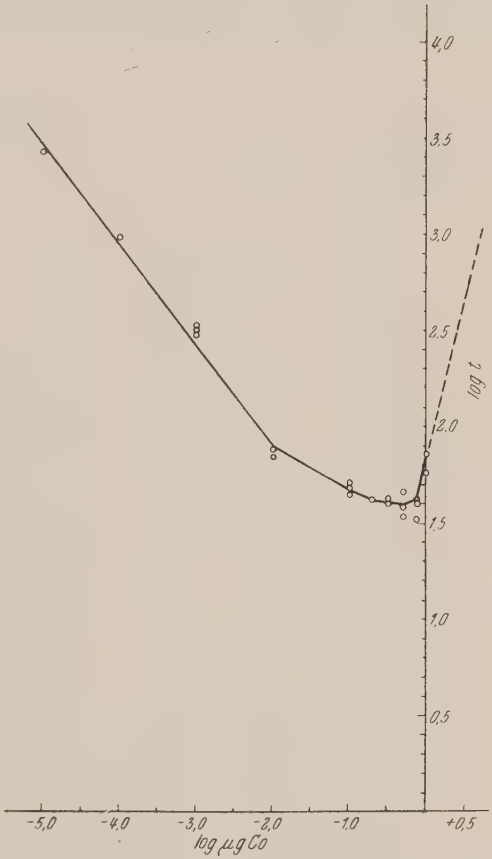


Abb. 1

Zu diesem Zwecke führten wir Modellversuche mit Lösungen, die Spuren von Kobalt und Zink, jedoch in wechselndem Verhältnis enthielten, aus. Aus den Versuchsergebnissen (Tabelle 2, Abb. 2) ging klar hervor, daß bei Anwendung gleicher Mengen an Reagenzien die störende Wirkung des Zinks immer bei einer Zinkmenge von etwa 50 μg offenbar infolge einer Lackbildung mit dem Zink merkbar wird. Diese störende Wirkung hängt ausschließlich von der Menge des anwesenden Zinks ab und ist unabhängig von dem Verhältnis Co : Zn. Zinkmengen unter 50 μg üben keinen oder keinen wesentlichen Einfluß auf die Reaktionsdauer der Kobaltkatalyse aus.

Wünscht man daher, die Wirkung eines beliebigen, durch sein Lackbildungsvermögen störenden Ions zahlenmäßig zu charakterisieren, so gibt man jene Menge — in Mikrogramm — des betreffenden Ions an,

die unter genau angegebenen Bedingungen sicher nicht mehr stört. Die bisher üblichen Verhältniszahlen (Menge des zu bestimmenden Ions zu Menge des störenden Ions, in unserem Falle Co : Zn) sind zu diesem Zwecke ungeeignet. So ist aus unseren Meßangaben ersichtlich, daß bei der Messung von $10^{-1}\,\mu g$ Co ein Co : Zn-Verhältnis von 1 : 200, bei $10^{-2}\,\mu g$ Co ein Co : Zn-Verhältnis von 1 : 1000, bei $10^{-3}\,\mu g$ Co ein Co : Zn-Verhältnis von 1 : 5000 und bei $10^{-4}\,\mu g$ Co eben ein Co : Zn-Verhältnis von 1 : 100000 keine bemerkenswerten Störungen hervorruft.

Tabelle 2. Kobaltbestimmung neben Zink

Einwaage an Co μg	Einwaage an Zn μg	Verhältnis Co : Zn	Reaktionsdauer t sec	Reaktionsdauer log t
	0,1	1 : 1	46,5, 51,5, 45,0	1,67, 1,71, 1,65
	0,2	1 : 2	44,5, 46,2, 51,0	1,65, 1,66, 1,71
	0,5	1 : 5	47,5, 45,1, 45,9	1,68, 1,65, 1,66
	1,0	1 : 10	46,0, 48,0, 51,9	1,66, 1,68, 1,72
10^{-1}	10,0	1 : 100	50,5, 50,3	1,70, 1,70
	20,0	1 : 200	55,5, 54,5, 53,0	1,74, 1,74, 1,72
	50,0	1 : 500	92,0, 113,7, 104,5	1,96, 2,06, 2,02
	100,0	1 : 1000	145,5, 163,0	2,16, 2,21
	500,0	1 : 5000	Kein katalytischer Effekt	
	0,1	1 : 10	73,0, 68,0, 71,9	1,86, 1,83, 1,86
	0,2	1 : 20	70,4, 74,6, 70,6	1,85, 1,87, 1,85
	0,5	1 : 50	74,0, 81,0, 75,0	1,87, 1,91, 1,88
10^{-2}	1,0	1 : 100	75,5, 73,0, 77,5	1,88, 1,86, 1,89
	5,0	1 : 500	88,4, 89,5	1,95, 1,95
	10,0	1 : 1000	91,5, 94,0, 92,8	1,96, 1,98, 1,97
	50,0	1 : 5000	338	2,53
	0,1	1 : 100	335, 358, 329	2,52, 2,55, 2,52
	0,2	1 : 200	340, 330, 351	2,53, 2,52, 2,55
	0,5	1 : 500	376, 342, 348	2,58, 2,53, 2,54
	1,0	1 : 1000	405, 375, 398, 370	2,61, 2,57, 2,60, 2,58
10^{-3}	5,0	1 : 5000	515, 532, 504, 523	2,71, 2,73, 2,70, 2,72
	10,0	1 : 10000	547, 541, 542	2,74, 2,73, 2,73
	20,0	1 : 20000	574, 564, 553	2,76, 2,75, 2,74
	50,0	1 : 50000	740, 752, 784	2,87, 2,88, 2,89
	100,0	1 : 100000	1580, 1740	3,20, 3,24, Niederschlag
	0,1	1 : 100	928 969	2,97, 2,99
	1,0	1 : 10000	1049, 1027, 940	3,02, 3,01, 2,97
	5,0	1 : 50000	1209, 1162, 1110	3,08, 3,06, 3,04
10^{-4}	10,0	1 : 100000	1090, 1080, 1065	3,04, 3,03, 3,03
	50,0	1 : 500000	1270, 1315, 1360	3,10, 3,12, 3,13
	100,0	1 : 1000000	2820, 2700	3,45, 3,43, Niederschlag

Diese Modellversuche bewiesen, daß sich das Kobalt auch in Gegenwart von Zink ohne Trennung bestimmen läßt, wenn man die Reaktionsdauer auch mit 10-, 100fach usw. verd. gleichen Anteilen der Stammlösung mißt. Die Auswertung erfolgt mittels einer Eichkurve auf folgende Weise:

Der Logarithmus der Reaktionsdauer der größten Verdünnung der Untersuchungssubstanz wird auf der Eichkurve vermerkt. Der entsprechende Logarithmus der Kobaltmenge wird als scheinbarer Konzentrationswert betrachtet. Nun werden die Logarithmen der scheinbaren

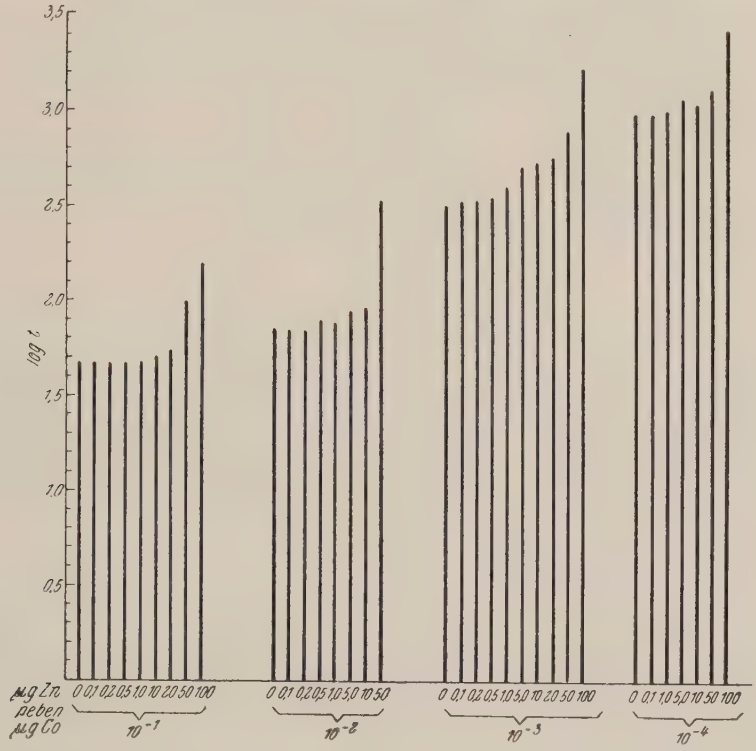


Abb. 2

Konzentrationswerte der nächstfolgenden Verdünnungen auf derselben Koordinate aufgetragen und mit Hilfe dieser und der Logarithmen der experimentell festgestellten Reaktionsdauer der entsprechenden Verdünnungen eine neue Kurve konstruiert. Decken sich nun die neue Kurve und die Eichkurve, so waren die Verdünnungen richtig gewählt und der bisher als scheinbar betrachtete Wert der Co-Konzentration kann als richtig angenommen werden. Andernfalls müssen weitere, das heißt größere Verdünnungen auf gleiche Weise untersucht werden, bis wenigstens

drei so bestimmte Schnittpunkte der Logarithmen der Reaktionsdauer und Co-Mengen auf die Eichkurve oder ganz in deren Nähe fallen. Wurde die Menge des Zinks im Untersuchungsmaterial schon vorher bestimmt, so hat man es einfach, die Verdünnungen richtig vorzubereiten. In diesem Falle genügt es, nur mit drei Verdünnungen zu arbeiten.

Zusammenfassung

Zur Bestimmung von Spuren (10^{-2} bis 10^{-5} µg) Kobalt ist nach Versuchen des Verfassers die bereits von *J. Bognár* angewandte, durch Kobalt katalysierte Oxydation des Alizarins durch Perborat am besten geeignet. Zink wirkt nur in Mengen von mehr als 50 µg/ml störend auf die Kobaltbestimmung. Der Störeffekt ist demgemäß von dem Verhältnis Co : Zn unabhängig. Er läßt sich auf die Lackbildung des Zinks mit Alizarin zurückführen. Dementsprechend kann die störende Wirkung durch passendes Verdünnen der Untersuchungslösung behoben werden. Eine genaue Arbeitsvorschrift wird angegeben.

Summary

Trials by the writer show that traces of cobalt (10^{-2}–10^{-5} µg) are best determined through oxidation of alizarin by perborate, which is catalyzed by cobalt. This reaction was previously used by *J. Bognár*. Zinc interferes only in amounts above 50 µg/ml. Accordingly, the interference is independent of the Co : Zn ratio. It may be attributed to the formation of a zinc-alizarin lake. Therefore, the interfering action can be averted by appropriate dilution of the solution under test. Precise working directions are given.

Résumé

Les recherches de l'auteur ont montré que la réaction d'oxydation de l'alizarine catalysée par le cobalt, et déjà employée par *J. Bognár*, est des plus appropriées pour la détermination de traces de cobalt (10^{-2} à 10^{-5} µg). Le zinc n'agit qu'en quantité supérieure à 50 µg/ml comme agent de perturbation de la détermination du cobalt. En conséquence l'effet perturbateur est indépendant du rapport Co : Zn. Il peut être attribué à la formation d'une laque de zinc et d'alizarine. Corrélativement il est possible d'éliminer cette action gênante par la dilution appropriée de la solution étudiée. Description d'un mode opératoire détaillé.

Literatur

[1] *J. Bognár*, Dissertation (ungarisch), P. Pázmány-Universität, Budapest, 1941; Magyar Kémiai Folyóirat **57**, 357 (1951); **59**, 25 (1953); M. T. A. Kém. Oszt. Közl. **9**, 335 (1958).

[2] *L. Szebellédy* und *M. Ajtai*, Mikrochim. Acta [Wien] **3**, 1, 21 (1938).

[3] *L. Szebellédy* und *M. Ajtai*, Mikrochem. **26**, 87 (1939).

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Wien

Dünnschichtchromatographie in der Toxikologie

Von

G. Machata

Mit 5 Abbildungen

(Eingegangen am 24. Juni 1959)

Bei forensisch-chemischen Untersuchungen ist es von Wichtigkeit, Giftstoffe aus komplexen organischen Stoffgemischen abzutrennen, um einzelne Substanzen zu identifizieren. Viele dieser Stoffe verlangen für ihre Identifizierung hohe und höchste Reinheit, um bei der Analyse physikalisch-chemische Methoden wie Absorptionsspektralanalyse im UV- oder IR-Bereich, Thermoanalyse, Röntgenanalyse und andere erfolgreich einsetzen zu können. Auch chemische Verfahren, wie Fällungs- und Farbreaktionen sind in Gemischen meist nur schlecht anwendbar bzw. sie geben dann kein korrektes Ergebnis. Als universell brauchbare Trennverfahren haben sich in den letzten Jahren die chromatographischen Methoden, speziell die Papierchromatographie und die Gaschromatographie eingeführt.

Die Nachteile der ursprünglich von *Tswett* eingeführten Säulenchromatographie ergeben sich aus der Schwierigkeit, die Säule gleichmäßig und in reproduzierbarer Weise mit Adsorptionsmittel zu füllen, das Chromatogramm zu entwickeln, und aus der Unmöglichkeit, eine Vergleichssubstanz mitlaufen zu lassen. Trotz scharfer Trennung ist für die fraktionierte Elution des Chromatogramms eine umständliche Arbeitsmethode erforderlich.

Um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, ist eine sogenannte „offene Säule" notwendig. Verschiedentlich wurde versucht, Papier mit Aluminiumoxyd oder Silicagel zu imprägnieren („reversed phase paper")[1]. Versuche mit Stärkekleister oder Magnesolstärke auf Glasplatten folgten. Die Herstellung der behandelten Papiere oder das Auftragen der Streichmassen auf Glas war umständlich und erst *Stahl*[2] arbeitete eine Methode aus, um mit Kieselgel rasch und einfach dünne Schichten, die „offenen

Säulen", auf Glasplatten zu erzeugen. *Stahl* führte mit seiner Methode hauptsächlich die Analyse ätherischer Öle, Teere, Harze und Terpene durch. Diese Anwendung für lipophile Stoffgemische ließ das Verfahren auch für die Toxikologie bedeutsam erscheinen. Dies wurde durch unsere Untersuchungen vollauf bestätigt.

Zur Herstellung der Schichten auf Glasplatten wird ein standardisiertes Gemenge von Kieselgel und Gips mit Wasser angerührt. Man erhält eine streichbare Masse, die nach dem Trocknen auf den Glasplatten relativ fest haftet. *Stahl* bevorzugt Schichten von etwa 0,25 mm Dicke; dieses Maß wurde auch bei unseren Versuchen eingehalten. Statt des käuflichen Aufstreichapparates* stellten wir selbst ein einfaches Gerät her, das reproduzierbare Schichten liefert und allen Ansprüchen vollkommen genügt (Abb. 1).

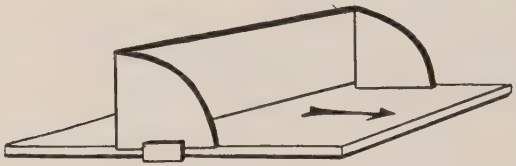


Abb. 1. Streichgerät

Erforderliche Ausrüstung

1. Glasplatten aus 2 bis 3 mm dickem Spiegelglas, 20×20 cm, 20×10 cm und 20×5 cm. Die Platten müssen rechtwinkelig zugeschnitten sein, die Kanten werden etwas angeschliffen.

2. Streichapparat aus rostfreiem Stahl; Schichthöhe naß 0,27 mm, nach dem Trocknen etwa 0,25 mm (Abb. 1).

3. Kieselgel G, Merck, Art. Nr. 7731. Dieses Präparat enthält bereits die nötige Menge Gips.

Herstellung der Schichten: 30 g Gel werden mit 60 ml Wasser glatt angerührt, vor den Streichapparat gebracht und aufgestrichen. Die Masse ist dünnflüssiger als nach der Vorschrift von *Stahl* und läßt sich gleichmäßiger und luftblasenfrei auftragen. Die Menge des Ansatzes reicht für etwa 90 cm aneinandergelegter Platten, die am besten auf einer Holzschablone gereiht werden. Durch langsames, zügiges Verschieben über die Platten entsteht eine gleichmäßige Schicht, die nach kurzem Antrocknen bei Zimmertemperatur 30 Minuten bei 100° getrocknet wird.

Die weitere Arbeitsmethodik entspricht der aufsteigenden Chromatographie mit Papieren. Die Startpunkte werden mit einer Spitze in 1,5 bis 2 cm Abstand voneinander, 1 bis 2 cm vom unteren Rand der Platte markiert und das Untersuchungsmaterial in möglichst kleinen Flecken aufgetragen. Die Platten sind dann in passende, verschließbare Gefäße

* Fa. DESAGA GmbH., Heidelberg, stellt komplette Ausrüstungen her.

mit dem Lösungsmittel vorsichtig einzustellen. Am Ende der Laufzeit wird die Lösungsmittelfront durch Punktierung sofort markiert und das Lösungsmittel entweder verdunsten gelassen oder mit einem Warmluftgebläse getrocknet. Schließlich erfolgt die Sichtbarmachung der einzelnen Flecken mit den Sprühreagenzien.

Diese neue Methode eignet sich für Arbeiten im Mikromaßstab, sie erleichtert das Auffinden der Zonen, bzw. der Flecken und gibt eine schärfere Trennung. Der Vorteil gegenüber der Papierchromatographie liegt in der wesentlich kürzeren Laufzeit von 30 bis 60 Minuten gegenüber

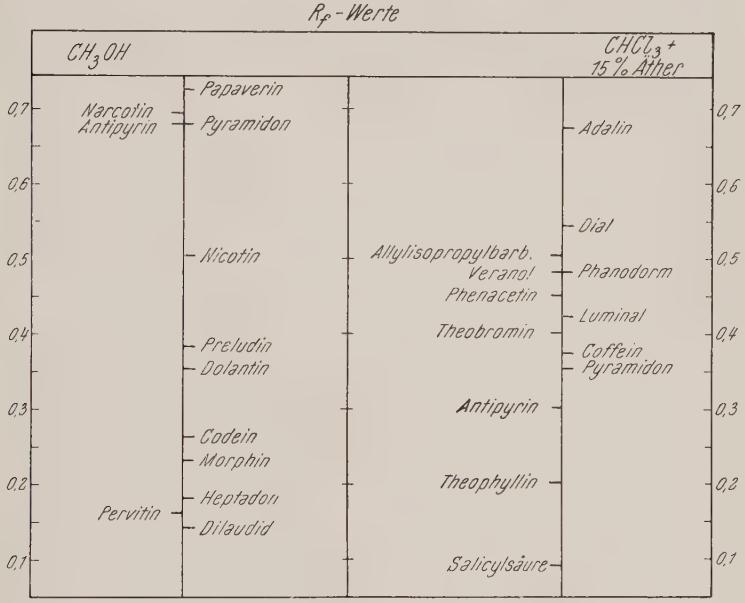


Abb. 2

12 bis 24 Stunden, in der Verwendung einfacher organischer Flüssigkeiten als Lösungsmittel und der Möglichkeit der Trennung von Substanzmengen bis zu einigen Milligramm (Streifenchromatogramme). Selbstverständlich lassen sich mit den präparierten Glasplatten auch Zirkularchromatogramme analog der Rundfiltertechnik oder zweidimensionale Chromatogramme anfertigen.

Für toxikologische und klinische Zwecke wurde als Lösungsmittel bis jetzt Methanol für basische Stoffe, besonders für Suchtgifte, verwendet[3]. Für die Extrakte der sauren Ausschüttelung im Stas-Otto-Verfahren eignet sich ein Gemisch von Chloroform mit 15% Äther. Der Ätheranteil regelt die Laufzeit der Substanzen in jeder gewünschten Weise, z. B. erhöhen sich die R_f-Werte der Barbiturate und sinken die R_f-Werte

der Pyrazolonderivate mit dem Äthergehalt des Lösungsmittelgemisches. Die R_f-Werte werden wie üblich bestimmt und sind für ein gegebenes Lösungsmittelgemisch bei gleicher Schichtdicke konstant. Wir konnten mit den verschiedensten Plattenchargen exakt reproduzierbare Werte erzielen (Abb. 2). Als brauchbare Sprühmittel wurden folgende Reagenzien verwendet:

Dragendorff-Reagens* (für Alkaloide u. a.): 850 mg Wismutsubnitrat werden in 10 ml Eisessig und 40 ml Wasser gelöst. Dazu setzt man eine Lösung von 8 g Kaliumjodid in 20 ml Wasser und verdünnt 1 ml dieser Mischung mit 2 ml Eisessig und 10 ml Wasser.

Essigsaure Jod-Jodkalilösung (für Alkaloide u. a.): 2 ml einer Lösung von 5% Jod in 10%iger Kaliumjodidlösung werden mit 3 ml Wasser und 5 ml 2-n Essigsäure gemischt.

Essigsaure Kaliumpermanganatlösung (für reduzierbare Substanzen): Gleiche Volumteile 0,1-n Kaliumpermanganatlösung und 2-n Essigsäure werden gemischt.

Fluoreszein-Natrium-Lösung: 0,004% in Wasser.

Essigsaure Eisenchloridlösung (für Pyrazolone): Gleiche Volumteile 5%ige wäßrige Eisen(III)-chloridlösung und 2-n Essigsäure werden gemischt.

Zwikkers Reagenzien (für Barbiturate): I. 0,5% Kobaltacetat in Methanol. II. 0,5% Lithiumhydroxyd in Methanol.

Die zu untersuchenden Substanzen werden zweckmäßig in einem leichtflüchtigen organischen Lösungsmittel gelöst und auf die Startpunkte aufgetragen. Dabei ist darauf zu achten, daß die Alkaloide als freie Basen und die sauren Gifte als freie Säuren vorliegen. Wir verwenden normalerweise die Ausschüttelungen aus der Aufarbeitung nach *Stas-Otto* direkt zur Chromatographie. Als weiterer Vorteil der Methode ist auch die Anwendbarkeit aggressiver Reagenzien als Sprühmittel anzusehen. So ist es z. B. möglich, mit dem Marquisschen Reagens anzufärben, um differenzierte Farbreaktionen der Opiumalkaloide zu erhalten. Sollte ein geeignetes Reagens fehlen, so kann man sich mit dem raschen Erhitzen der Platten auf etwa 500° behelfen. Die Substanzen treten dann als Verkohlungsflecke hervor. Dazu müssen aber z. B. die Barbiturate durch Laugenbesprühung in Salze übergeführt werden, um einer Sublimation vorzubeugen. Nach Besprühen mit einer Lösung von Fluoreszein-Natrium in Wasser (*Wieland* und *Bauer*[5]) sieht man im gefilterten UV-Licht die verschiedenen Flecke dunkel auf der gelbgrün fluoreszierenden Platte oder sie sind von einem nicht fluoreszierenden Ring umgeben. Bromdampf wandelt das Fluoreszein in Eosin um und läßt die Flecke farblos auf der rosa Schicht hervortreten[2].

---

* Modifiziert nach *Jatzkewitz*[4].

Zur Auftrennung komplizierter Gemische halten wir eine Laufzeit von 60 Minuten ein und erhalten so ein etwa 14 cm langes Chromatogramm. Abb. 3 zeigt das Weg/Zeit-Diagramm für Methanol; Chloroform-Äther gibt annähernd dieselbe Kurve. Zur Auffindung der Substanzen oder zur Bestimmung der R_f-Werte bedient man sich zweckmäßigerweise einer Schablone nach *Cramer*[1] (Abb. 4).

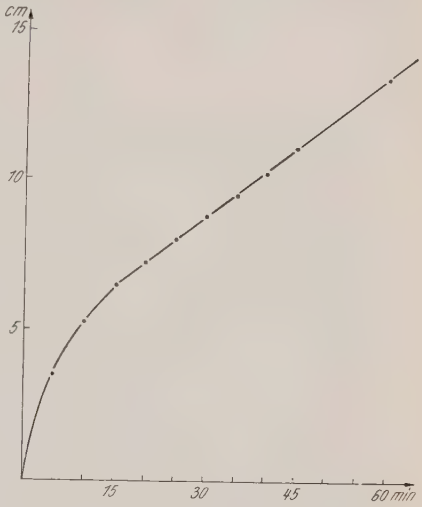


Abb. 3. Weg/Zeit-Diagramm für Methanol als mobile Phase

Will man die Dicke der Plattenschichten kontrollieren, so kann man Farblösungsgemische mitlaufen lassen, deren R_f-Werte für die Schichtdicke charakteristisch sind. Die R_f-Werte des Untersuchungsmaterials sind dann an Hand des Farbtestes zu korrigieren. Wir ziehen diesem Verfahren den direkten Weg mit Vergleichssubstanzen vor, der auf alle Fälle mehr Sicherheit gibt.

Sollte eine Identifizierung durch den R_f-Wert und durch das Sprühreagens nicht gelingen, muß der Fleck (durch Abschaben) isoliert und die Substanz daraus mit Alkohol extrahiert werden. Der eingedampfte Auszug kann dann weiter physikalisch-chemisch untersucht werden. Am geeignetsten ist dazu bei nicht vollständiger Trennung die fraktionierte Sublimation im waagrechten Rohr[6] oder bei Einzelstoffen die spektrophotometrische Methode.

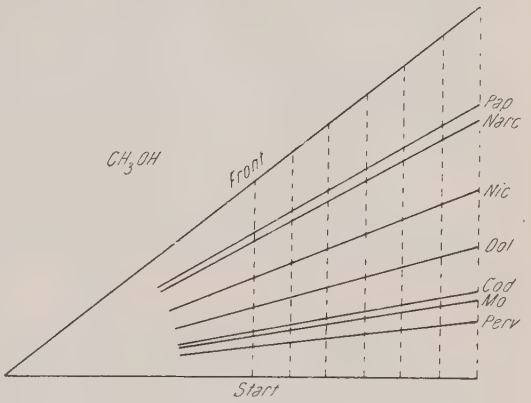


Abb. 4. R_f-Werte: Schablone nach *Cramer*

Die Platten können als Beweismaterial und Dokument aufbewahrt werden, indem man sie entweder mit einer zweiten Glasplatte bedeckt und an den Rändern verklebt oder durch Eintauchen in erwärmtes Paraffin fixiert. Eine weitere Möglichkeit der Dokumentation ist die Photographie, insbesondere die Farbphotographie.

In einem Falle von Selbstmord mit Opiumtinktur konnten im Mageninhalt 108 mg Opiumalkaloide aufgefunden werden. Im Dünnschichtchromatogramm wurden die Hauptbestandteile der Opiumalkaloide getrennt und als Morphin, Codein und Narcotin erkannt. Drei verschiedene Chromatogramme von je 50, 200 bzw. 500 μg Extrakt zeigen die Trenn-

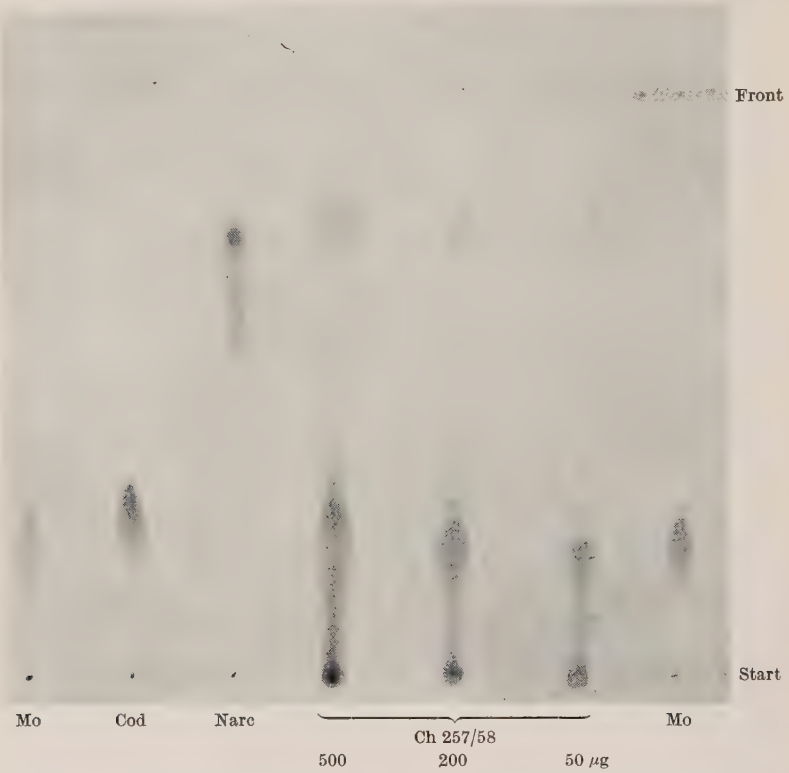


Abb. 5. Ch 257/58: Extrakt aus Mageninhalt 0,5, 0,2 und 0,05 mg; Testlösungen: Morphin, Codein und Narcotin je 0,05 mg Base; eluiert mit Methanol; Sprühreagens: Dragendorff-Reagens

schärfe bei den erwähnten drei Alkaloiden (Abb. 5) trotz der relativ großen Gesamtmenge.

Bei vielen Substanzen ist die Dünnschichtmethode der Papierchromatographie bezüglich des Trennvermögens zumindest ebenbürtig, wenn nicht überlegen. Die Zeitdauer der Trennung ist jedoch wesentlich kürzer und die Auswahl der Sprühreagenzien größer. Vor allem kann auch mit Mikromengen präparativ-quantitativ gearbeitet werden, da verhältnismäßig große Mengen eines Substanzgemisches (Milligramm) noch scharf getrennt werden können. Die erwähnten Vorteile lassen

erwarten, daß die Methode für die verschiedensten toxikologischen und kriminalistischen Zwecke verwendet werden kann. Es sei z. B. auf die Trennungen der Phosphorsäureester, Antihistamine und barbituratfreien Sedativa, von Tinten, fettlöslichen Farben (Lippenstifte, Farbstifte) und ähnlichem hingewiesen, die in unserem Laboratorium schon in Angriff genommen wurden. Als ein weiteres Trennverfahren zu den bisher bekannten und üblichen Methoden stellt die Dünnschichtchromatographie für das toxikologisch-chemische Laboratorium eine wertvolle Ergänzung dar.

Zusammenfassung

Für toxikologisch-chemische Untersuchungen sind einfache, rasche und sichere Methoden der Trennung komplizierter Substanzgemische unentbehrlich. Neben den bekannten Methoden wie Papierchromatographie und fraktionierte Sublimation kann die auf dem Prinzip der „offenen Säule" beruhende Dünnschichtchromatographie erfolgreich für viele Substanztrennungen verwendet werden. Diese adsorptionschromatographische Methode an Kieselgelschichten erlaubt in kürzester Zeit eine Trennung der verschiedenen organischen Gifte und überdies die Entwicklung der Chromatogramme auch mit aggressiven Sprühreagenzien. Die Technik der Anfertigung geeigneter Schichten und die praktische Anwendung der Methode für toxikologische Probleme wird ausführlich geschildert.

Summary

Simple, rapid and reliable methods for separating complicated mixtures are indispensable to toxicological-chemical studies. Besides the familiar procedures such as paper chromatography and fractional sublimation, many separation problems can be successfully solved by thin layer chromatography which is based on the principle of "the open column". This adsorption chromatographic method on layers of silica gel permits a rapid separation of various organic poisons and in addition the development of the chromatogram by means of aggressive spray reagents. A detailed description is given of the technique of preparing suitable layers and of the practical application of the method to toxicological problems.

Résumé

Il est indispensable de disposer de méthodes de séparation de mélanges complexes simples, rapides, sûres pour les recherches de toxicologie chimique. A côté des méthodes connues telles que la chromatographie sur papier et la sublimation fractionnée il est possible d'employer pour de nombreuses séparations de substances le principe de la «colonne ouverte» qui repose sur la chromatographie en couches minces. Cette méthode d'absorbtion chromatographique sur des couches de gel de silice permet de séparer dans un temps très court les différents poisons organiques et de développer ensuite le chromatogramme à l'aide de réactifs pulvérisés également agressifs. La technique de

préparation de couches adsorbantes appropriées et la mise en œuvre pratique de la méthode pour la résolution de problèmes de toxicologie sont décrites en détail.

Literatur

[1] *F. Cramer*, Papierchromatographie, 3. Aufl. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie. 1954.
[2] *E. Stahl*, Pharmazie **11**, 633 (1956); Chem.-Ztg. **82**, 323 (1958).
[3] *G. Machata*, Wien. klin. Wschr. **71**, 301 (1959).
[4] *H. Jatzkewitz*, Z. physiol. Chem. **292**, 94 (1953).
[5] *Th. Wieland* und *L. Bauer*, Angew. Chem. **63**, 511 (1951).
[6] *G. Schmidt*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 406.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der L. Eötvös-Universität und dem Forschungsinstitut für die nachrichtentechnische Industrie, Tungsram, Budapest

Beiträge zur flammenphotometrischen Analyse der Erdalkalimetalle

Von

E. Pungor und **A. J. Hegedüs**

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 1. Juli 1959)

Einleitung

Vor einigen Jahren haben wir eine flammenphotometrische Methode ausgearbeitet, mit der Calcium, Strontium und Barium in den Erdalkalioxydschichten der Elektronenröhren-, Fernsehbildröhren- und Leuchtstofflampenkathoden befriedigend genau und erstaunlich schnell ermittelt werden können[1]. Schon von Anfang an wollten wir damit nicht nur über die Zusammensetzung der verschiedensten Oxydkathoden, sondern auch darüber Auskunft erhalten, wieweit sich das ursprünglich benutzte Ca : Sr : Ba-Gewichtsverhältnis während der Herstellung der Erdalkalicarbonatgemische[2], während der elektrophoretischen Auftragung dieser Gemische auf das Grundmetall der Oxydkathode und schließlich während des Betriebes der Elektronenröhre in der elektronenemittierenden Oxydschicht der Kathode selbst ändert. In diesem Sinne haben *Gergely, Váradi, Ádám* und *Ettre* das letztgenannte Problem erfolgreich untersucht[3,4]. In der letzten Zeit haben wir uns die Erforschung der allgemeinen flammenphotometrischen Eigenschaften der Erdalkalimetalle zum Ziele gesetzt.

Zu den Versuchen benutzten wir ein Beckman-DU Flammenspektrophotometer mit dem von uns konstruierten Direktzerstäuber[5,6] mit Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme, die im angewandten Meßbereich unter den in der Literatur empfohlenen Flammen die kleinste Untergrundstrahlung verursacht.

Als Reagenzien dienten:
Calciumcarbonat, Merck p. a.;
Strontiumchlorid, Merck puriss.;
Bariumchloriddihydrat, Riedel-de Haën p. a.;
Salzsäure, 20%ig, dest.;
Schwefelsäure, Chinoin p. a.;
Perchlorsäure, Merck p. a.;
Essigsäure, Chinoin p. a.;
Salpetersäure, Chinoin p. a.;
Äthanol, Chinoin, absol., Pharm. Hung. V.;
Methanol, Chinoin p. a.

Die Eichkurven

Auf Grund bisheriger Untersuchungen bei verschiedenen Atom- und Molekülemissionen der Alkali- und Erdalkalimetalle konnte eindeutig festgestellt werden, daß die Konzentrations-Emissions-Kurven in den

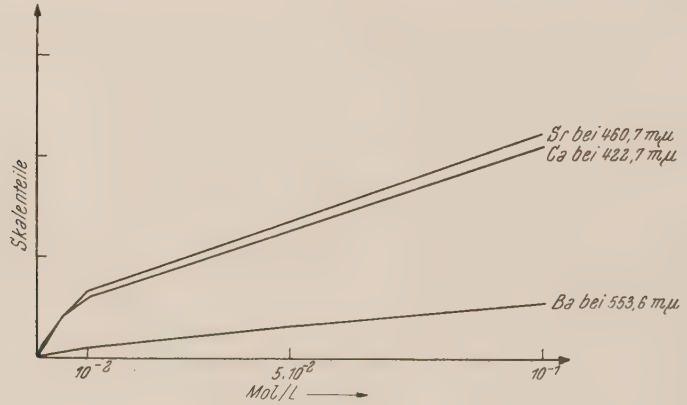


Abb. 1

praktisch vorkommenden Konzentrationsbereichen an Atomlinien gemessen mehr oder weniger, aber konsequent gekrümmt, an Molekülbanden jedoch stets geradlinig sind[7]*. Demnach handelt es sich bei den Eichkurven, die bei Ca 422,67, Sr 460,73 und Ba 553,56 aufgenommen wurden (Atomlinien), um Sättigungskurven (Abb. 1); bei den übrigen Eichkurven, die bei Ca 554, 624, Sr 670 und Ba 493, 515, 745, 870 aufgenommen wurden, innerhalb eines Fehlers von 2,7% um geradlinige Eichkurven (Molekülbande).

Auch während der Untersuchung der Eichkurven in Flammen verschiedener Temperatur[6] blieb diese Gesetzmäßigkeit erhalten. Die an

* Eine Ausnahme muß dann festgestellt werden, wenn die in die Flamme geführte Substanzmenge zu groß ist. In diesem Falle kann so verfahren werden, daß das Zerstäubergerät auf eine kleinere Zerstäubungsgeschwindigkeit eingestellt wird.

Banden gemessenen Emissions-Konzentrationskurven verliefen bei jeder Temperatur geradlinig, während die an Linien gemessenen mit fallender Temperatur einen stärkeren Sättigungscharakter aufwiesen. Diese Erscheinung kann für die Wellenlänge Ca 422,7 auch aus Abb. 2 entnommen werden. Die Werte der Abb. 2 sind so berechnet, daß der Emissionswert bei der $CaCl_2$-Konzentration von 10^{-3} Mol/l für alle Temperaturen gleich-

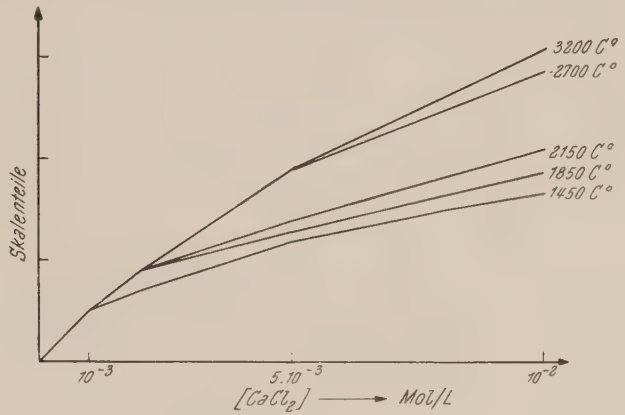


Abb. 2

gesetzt wurde. Die übrigen Werte wurden im gleichen Maße wie der erste Wert vergrößert. Außerdem kann man feststellen, daß mit fallender Temperatur der Wert des Verhältnisses $E_{624}/E_{422,67}$, allgemeiner $E_{\text{mol}}/E_{\text{atom}}$ steigt.

Die gegenseitige Störung des Calciums, Strontiums und Bariums und die Beseitigung des dadurch verursachten Fehlers

Es wurde schon öfters darüber berichtet, daß sich die Metalle und somit auch die Erdalkalimetalle bei der Ausführung quantitativer Flammenanalysen gegenseitig beeinflussen. Bei den Metallen, die in der Flamme keine Anionen bilden, handelt es sich um zweierlei Störungen:

a) Additive Störungen, wenn zwei oder mehrere Metalle in der Flamme voneinander unabhängig emittieren; das kann vor allem bei Messungen an zwei Molekülbanden oder an einer Atomlinie und an einem Molekülband der Fall sein, wenn sich nämlich die Gesamtemission aus

$$E_{\text{gesamt}} = E_{\text{mol}} + E_{\text{mol}}$$

bzw.

$$E_{\text{gesamt}} = E_{\text{mol}} + E_{\text{atom}}$$

zusammensetzt.

b) Ionisationsstörungen, die bei zu hohen Anregungstemperaturen vorkommen und leichter durch die von uns empfohlene Methode der Temperaturerniedrigung[6], als mathematisch behoben werden können.

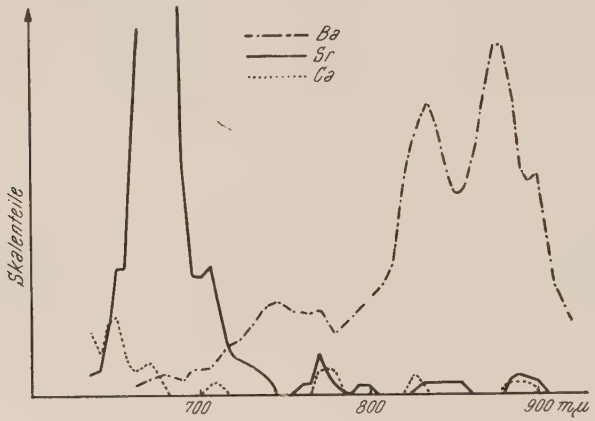


Abb. 3. Emissionsspektren der drei Erdalkalien zwischen 630 und 930 nm

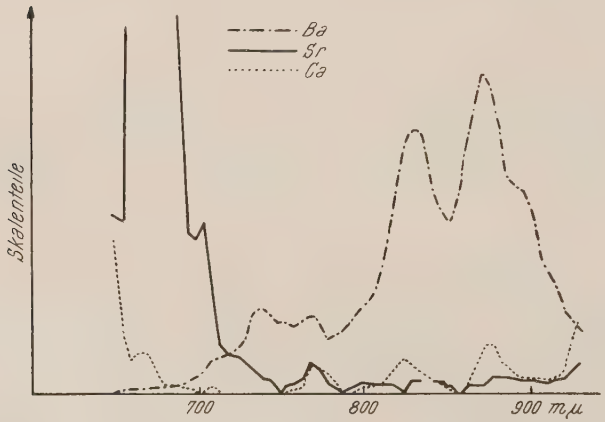


Abb. 4. Emissionsspektren der drei Erdalkalien zwischen 650 und 950 nm in Gegenwart von Äthanol

Bei den Erdalkalimetallen muß man in Flammen bis 2700° C praktisch nicht mit Ionisationsstörungen rechnen[7].

Die gegenseitige Strahlungsbeeinflussung ist also bei den drei Erdalkalimetallen additiv. Sie kann bei den Wellenlängen Ca 422,67 und Sr 460,73 durch Verminderung der Spaltöffnung auf 0,1 mm in Konzentrationsbereichen bis mindestens 10^{-3} Mol/l auf vernachlässigbare Werte herabgedrückt werden, wobei die Lichtstärke unter Verwendung von

Photozellen als Meßinstrument noch eine genügend empfindliche Messung gewährleistet. Dasselbe kann man auch bei Ba 870 durch Verengen des Spaltes auf 0,2 mm erreichen, was aus Abb. 3 und 4 gut hervorgeht. Abb. 3 zeigt, daß die drei Erdalkalimetalle im Spektralbereich von 630 bis 930 nm verschiedenartige, mehr oder weniger intensive Spektren geben, und daß man durch die Auswahl einer geeigneten Spaltöffnung und Wellenlänge — für Barium z. B. 750, 810 und 870 nm — tatsächlich eine praktisch vernachlässigbare Störung sichern kann. Bei den übrigen Wellenlängen konnte die gegenseitige Störung durch ähnliche Maßnahmen nicht beseitigt werden.

Es kommt manchmal vor, daß wenig Barium neben viel Calcium oder Strontium bestimmt werden muß. Dank der strengen Additivität, wie sie aus den Zahlen der Tabelle 1 eindeutig hervorgeht, kann die von

Tabelle 1

$[Ca] = 5 \cdot 10^{-3}$, $[Sr] = 5 \cdot 10^{-3}$, $[Ba] = 5 \cdot 10^{-3}$

Wellenlänge nm	Emission von			Gesamtemission von Ca + Sr + Ba
	Ca	Sr	Ba	
	getrennt gemessen			
700	—	14	2,8	17,0
730	—	3	8	11,1
750	—	—	10,5	10,5
775	3	2	8	13,0
825	2	—	29	31,0
880	1	1	41,5	43,0
890	1	2	27	29,8

Calcium und/oder Strontium verursachte Störung nach Messen an zwei Wellenlängen des Ba-Bandes mathematisch korrigiert werden. Man bedient sich hierfür der folgenden Gleichung[8]

$$c = \frac{E_x - b \cdot E_y}{k \cdot (a - b)}, \tag{1}$$

worin c die gesuchte Konzentration,

$$a = \frac{E_{1x}}{E_{2x}}, \quad b = \frac{E_{1y}}{E_{2y}}, \quad k = \frac{E_{1y}}{c},$$

x und y jedoch die beiden zur Messung dienenden Wellenlängen bedeuten.

Dabei verfährt man prinzipiell so, daß man den Spalt auf 0,5 mm öffnet, das heißt die Empfindlichkeit der Bariumbestimmung steigert, und die dadurch entstandene stärkere Störung mit Hilfe der Gl. (1) korrigiert. Man ermittelt zuerst unter streng konstant gehaltenen Bedingungen (konstante Brennereinstellung usw.) die Emission einer

Tabelle 2

Carbonatgemisch Einwaage mg	Emission Skalenteile Ca $\lambda =$ 422,7 nm	Sr $\lambda =$ 460,7 nm	Ba $\lambda =$ 870 nm	Gefunden $CaCO_3$ mg	$SrCO_3$ mg	$BaCO_3$ mg	Gesamte Carbonatmenge gefunden mg	Δ %	% $CaCO_3$ gef.	% $CaCO_3$ gegeb.	% $SrCO_3$ gef.	% $SrCO_3$ gegeb.	% $BaSO_3$ gef.	% $BaSO_3$ gegeb.
a) 119,8	6,2	61,5	139	8,49	55,26	51,19	114,94	— 4,1	6	5	46	45	48	50
b) 131,8	20,9	33,0	154	48,95	25,27	63,22	137,44	+ 4,3	34	27	19	20	47	53
c) 121,6	4,8	61,5	164	5,99	55,26	67,54	128,79	+ 5,9	5	5	44	45	51	50
d) 127,4	14,5	46,2	148	30,47	37,06	60,92	128,45	+ 0,8	23	20	29	30	48	50
e) 123,4	4	16,9	77,5	5,5	54,6	65,7	125,8	+ 2,0	5	5	43	45	52	50
f) 166,4	25,3	10,3	107	51,8	31,0	91,2	174,0	+ 4,6	30	27	18	20	52	53

Bariumchlorid-Standardlösung bestimmter Konzentration bei 870 und 750 nm und berechnet daraus die Werte der Konstanten a und k. Aus den Emissionswerten des störenden Metalls, des Calciums oder Strontiums bei beiden Wellenlängen erhält man weiterhin den Wert von b. Man braucht dabei die exakte Konzentration des störenden Metalls nicht unbedingt zu kennen. Schließlich muß nur die Emission der Probelösung gemessen werden, um die gesuchte Konzentration des Bariums mittels Gl. (1) ausrechnen zu können. Wenn Calcium und Strontium gleichzeitig anwesend sind, muß ihre Konzentration vorher nach der oben beschriebenen Methode ermittelt, eine Vergleichslösung mit gleichem Calcium- und Strontiumgehalt hergestellt und die Konstante b mit Hilfe dieser Lösung bestimmt werden.

Aus Gl. (1) erkennt man, daß die Anwendbarkeit der erwähnten Korrekturrechnung von den Werten der Konstanten a und b abhängt. Je näher diese einander liegen, desto größer wird der Fehler, was natürlich die Bestimmung von wenig Barium neben viel Calcium und Strontium unsicher macht. Nun können aber die Werte der Konstanten durch die Verstellung der Zerstäuberkapillare oder durch die Verschiebung der Gleichgewichte in der Flamme willkürlich geändert werden. Abb. 3 und 4 zeigen die Veränderung der Spektren bei Zusatz von Äthanol zur Probelösung. Während das Verhältnis der Emissionswerte des Bariums sich bei den zwei benutzten Wellenlängen durch die Zugabe von Alkohol nicht wesentlich änderte, erfuhren die Verhältnisse der Calcium- und Strontiumemissionen eine erhebliche Wandlung, was durch die Veränderung der Konstante b in Tabelle 5 besonders deutlich wird.

Analysenergebnisse

Mit dieser Methode wurden zahlreiche Analysen durchgeführt, die zum Teil in den Tabellen 2 bis 6 zusammengefaßt sind. Unsere Standardlösungen enthielten 0,01-n Salzsäure im Überschuß. Zur Auflösung der Carbonatgemische wurde 0,1- bis 0,5-n Salzsäure verwendet. Wenn nur das prozentuale Verhältnis zwischen Calcium, Strontium und Barium bestimmt werden sollte, konnte die Gesamtmenge des Carbonat- oder Oxydgemisches, das heißt die Einwaage samt der zur Auflösung benutzten Säuremenge unbeachtet gelassen werden, ein Umstand, der den Zeitbedarf

Tabelle 3

Ba^{2+}-Standard ml	Berechnet nach der		Störende Substanz	Konstanten		
	Eichkurve $\mu g\ Ba^{2+}$/ml	Korrekturrechnung $\mu g\ Ba^{2+}$/ml		a	b	k_2
50	80,5	39	400 μg Ca/ml	3,2	3,95	0,46
100	134	102				
1	17,2	0,84	400 μg Sr/ml	3,2	0,85	0,46
2	17,6	1,48				
5	20,2	2,2				
10	26	9,3				
50	65,8	48,8				
100	122	107,5				
5	53	3	400 μg Ca +	3,2	1,66	0,46
10	58	7,1	400 μg Sr/ml			
50	94,5	47,2				
100	152	114				

z. B. für eine Oxydkathodenanalyse auf alle drei Komponenten auf etwa 5 Minuten herabsetzte. In Tabelle 6 sind die Analysenergebnisse einer Oxydkathode als Beispiel angeführt, bei der die ursprüngliche Zusammensetzung der Kathodenschicht bekannt war. Für die Analyse wurden die Kathoden aus den Normal- oder Miniaturradioröhren sorgfältig entnommen, in eine Küvette des Beckman-Flammenphotometers geknüllt, mit 2 ml 0,1-n Salzsäure behandelt und die nach Auflösung der Kathodenüberzüge erhaltenen Lösungen unmittelbar zerstäubt.

Im Laufe unserer Versuche bemerkten wir öfters, daß sich der Erdalkaligehalt der sehr verd. Eichlösungen, je nach der zur Aufbewahrung benutzten Glasqualität mehr oder weniger verminderte, wobei in der Lösung Natrium nachgewiesen werden konnte: eine Fehlermöglichkeit, die beachtet werden muß.

Tabelle 4

Ba^{2+}-Standard ml	Berechnet nach der		Störende Substanz	Konstanten		
	Eichkurve $\mu g\ Ba^{2+}$/ml	Korrekturrechnung $\mu g\ Ba^{2+}$/ml		a	b	k_2
1	10	2,1	400 μg Ca/ml	3,42	3,52	0,169
2	11,8	1,94	400 μg Sr/ml	3,42	0,52	0,169
5	15,4	5,33				
10	20,6	9,7				
40	53,5	44,0				
80	98,0	88,5				
1	35,5	0,29	400 μg Ca +	3,42	1,37	0,169
2	36,5	1,16	400 μg Sr/ml			
5	42	1,74				
10	46,8	9				
40	79,5	45,3				
80	124	92				
10	29,1	9	200 μg Ca + 200 μg Sr/ml			

Tabelle 5

Ba^{2+}-Standard ml	Berechnet nach der		Störende Substanz	Konstanten		
	Eichkurve $\mu g\ Ba^{2+}$/ml	Korrekturrechnung $\mu g\ Ba^{2+}$/ml		a	b	k_2
1	35	1,08	400 μg Ca/ml	3,40	2,56	0,462
2	35,5	1,74				
5	39,3	—				
10	44,3	4,55				
40	82,5	43,5				
80	112,5	82,5				
1	14,2	1,22	400 μg Sr/ml	3,40	0,725	0,462
2	15,6	2,17				
5	18,4	6,1				
10	22,9	10,5				
40	51,7	37,2				
80	96	84,5				
1	47,2	0	400 μg Ca +	3,40	1,49	0,462
2	48,0	1,48	400 μg Sr/ml			
5	51	5,23				
10	56	9,1				
40	86	41				
80	130	80,5				

Tabelle 6. Oxydkathodenanalyse

	Gefunden		Einwaage in % des Carbonatgemisches
	in der Lösung µg/ml	%	
$CaCO_3$	7	2	5
$SrCO_3$	190	47	45
$BaCO_3$	205	51	50

Über die Rolle der Hydrolyse und der thermischen Dissoziation in der Flamme

Die Hydrolyse während des Einengens spielt in der Flammenphotometrie wegen der Zerstäubung wäßriger Lösungen, das heißt wegen des großen Wasserüberschusses eine wichtige Rolle, die sich besonders beim Einfluß der Säurereste geltend macht.

Zeichnet man die unter gleichen Bedingungen aufgenommenen Eichkurven des Calciums, Strontiums und Bariums nach Korrektur der Emissionswerte auf Grund der Empfindlichkeitskurve der UV-Photozelle des Beckman-Spektrophotometers[9] für die Wellenlängen 423, 461 und 554 nm auf, so erhält man den wahren Emissionsverhältnissen entsprechende Kurven. Als korrigierte Emissionswerte der 10^{-2}-m Erdalkalichloridlösungen erhielten wir, bezogen auf die Emission von Ca:

$$\begin{aligned} Ca_{422,67}\ & 1{,}000, \\ Sr_{460,73}\ & 1{,}030, \\ Ba_{553,56}\ & 0{,}101. \end{aligned}$$

Wenn wir weiters annehmen, daß in der Flamme ein stationäres Gleichgewicht herrscht, kann annähernd angenommen werden:

$$2{,}303 \log \frac{E^2_{Ca}}{E^2_{Sr}} = \frac{1}{RT}(H_{Sr} - H_{Ca}). \qquad (2)$$

Setzt man in diese Gleichung die entsprechenden Literaturwerte der thermischen Dissoziationsenergien[10] ein, so erhält man z. B. im Falle einiger Erdalkaliverbindungen die Zahlen der Tabelle 7. Die auffallende Übereinstimmung zwischen den der Literatur entnommenen und den berechneten Werten bei den Oxyden bekräftigt die Annahme, daß die

Tabelle 7. Thermische Dissoziationskonstanten der Erdalkaliverbindungen in eV-Einheiten

Kation \ Anion	Chlorid	Hydrid	Oxyd	Chlorid	Hydrid	Oxyd
	Theoretischer Wert			Berechneter Wert		
Ca	2,76	1,7	4,7 ± 0,5	2,76	1,7	4,7
Sr	2,5 ± 1	1,65 ± 0,1	4,6 ± 0,5	2,59	1,53	4,53
Ba	2,2 ± 0,5	1,8 ± 0,1	5,4 ± 0,5	3,35	2,29	5,29

anregbaren Erdalkalimetallatome infolge der thermischen Dissoziation der Oxyde und nicht der Chloride bzw. Hydride entstehen.

Aus den korrigierten Werten der Calciumemissionen in Flammen verschiedener Gaszusammensetzung, das heißt verschiedener Temperatur und aus dem Literaturwert der Knallgasflammentemperatur (2700° C), erhält man ebenfalls mit Hilfe der Gl. (2) unter der — nur annähernd gültigen — Voraussetzung, daß bei allen Temperaturen die gleiche Fraktion der entstandenen Atome emittiert, die Temperaturwerte der Tabelle 8, das heißt die Temperaturen der übrigen, zur Aufnahme der Eichkurven benutzten Flammen. Die Übereinstimmung mit dem theoretischen Temperaturwert der Acetylen-Sauerstoff-Flamme ist sehr gut, mit den früher von uns gemessenen Temperaturwerten der übrigen Flammen befriedigend. Demnach muß auch die stärkere Krümmung der Eichkurven bei niedrigeren Temperaturen in erster Linie der thermischen Dissoziation und nicht der Selbstabsorption zugeschrieben werden, obzwar diese auch eine Rolle spielt. In der Tabelle 8 sind auch die

Tabelle 8

Angewandtes Gasgemisch	Emissionsverhältnis*	Temperatur				Dissoziationskonstanten****		
		Literaturangabe C°	Gemessen und interpoliert** °C	Korrigiert*** °C	Berechnet** °C	CaO	SrO	BaO
$C_2H_2 + O_2$	2,83	3100[14]			3097	$1{,}4 \cdot 10^{-7}$	$3{,}0 \cdot 10^{-7}$	$1{,}8 \cdot 10^{-8}$
$H_2 + O_2$	1,00	2660[14]	2700	2700	2700	$1{,}6 \cdot 10^{-8}$	$2{,}2 \cdot 10^{-8}$	$1{,}6 \cdot 10^{-9}$
$H_2 + 70\% O_2$ $30\% N_2$	0,37		2180	2280	2417	$2{,}1 \cdot 10^{-9}$	$2{,}9 \cdot 10^{-9}$	$2{,}2 \cdot 10^{-10}$
$H_2 + 48\% O_2$ $52\% N_2$	0,128		1850	1990	2157	$2{,}8 \cdot 10^{-10}$	$4{,}1 \cdot 10^{-10}$	$1{,}6 \cdot 10^{-11}$
$H_2 + 20\% O_2$ $80\% N_2$	0,05	2000[14]	1430	1590	1967	$3{,}9 \cdot 10^{-11}$	$5{,}8 \cdot 10^{-11}$	$1{,}6 \cdot 10^{-12}$

* Bezogen auf die in der Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme gemessene Emission.
** In Beziehung auf die Temperatur der Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme (angenommen als 2700° C).
*** Auf den schwarzen Körper.
**** Für die berechnete Temperatur ermittelt.

thermischen Dissoziationskonstanten der Erdalkalimetalloxyde angeführt, um zu zeigen, daß diese Oxyde in der Flamme thermisch in sehr geringem Maße dissoziieren und überwiegend als solche vorliegen.

Einfluß von Säureresten, Laugen und Alkoholen auf die Emission der Erdalkalimetalle

Im Zusammenhang mit der vieluntersuchten Anionenstörung haben wir den Einfluß von Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, Perchlorsäure,

Phosphorsäure und Schwefelsäure auf die Emission einer Calciumchloridlösung bei den Wellenlängen 423, 554 und 624 nm untersucht und zum Teil mit der Literatur übereinstimmende, zum Teil neue Ergebnisse erhalten.

Salzsäure verursacht nur in größeren Mengen, über 1 Mol l, eine merkliche Depression (Tabelle 9), die sich bei Linien und Banden gleichmäßig bemerkbar macht. Die Ursache dieser Depression liegt in der Viskositätssteigerung der Lösung und der sich daraus ergebenden Vergrößerung der Zerstäubungsarbeit[11], das heißt in der Abnahme der versprühten Flüssigkeitsmenge, der anregbaren Atome bzw. Moleküle in der Flamme. Salzsäure hat also im normalerweise angewandten Konzentrationsbereich praktisch keinen störenden Einfluß auf die Emission der Erdalkalimetalle.

Tabelle 9. HCl-Einfluß auf die Ca-Emission $[CaCl_2] = 10^{-2}$

[HCl]	$E_{422,7}$	E_{554}	E_{624}
0	100	100	100
$5 \cdot 10^{-3}$	100	100	100
10^{-2}	100	100	100
$2 \cdot 10^{-2}$	100	100	100
$5 \cdot 10^{-2}$	100	100	100
10^{-1}	100	100	100
$5 \cdot 10^{-1}$	100	99	98,0
1	96	93	95,0
2	91	88	89,0

Salpetersäure erhöht anfänglich die Emission der Calciumchloridlösung, vermindert sie aber später mit allmählich steigender Säurekonzentration (Tabelle 10). Die Wirkung der Salpetersäure ist bei atomarer und molekularer Emission im Falle niedrigerer Konzentrationen

Tabelle 10. HNO_3-Einfluß auf die Ca-Emission $[CaCl_2] = 10^{-2}$

$[HNO_3]$	$E_{422,7}$	E_{554}	E_{624}
0	100	100	100
$5 \cdot 10^{-3}$	103	102	104
10^{-2}	99	96	100
$2 \cdot 10^{-2}$	73	58	67
$5 \cdot 10^{-5}$	73	55	62
10^{-1}	75	54	58
$5 \cdot 10^{-1}$	73	53	58
1	73	54	60
2	73	55	61

nahezu gleichartig, aber in Gegenwart von viel Salpetersäure ist eine Anomalie festzustellen.

Essigsäure übt einen ähnlichen Einfluß aus wie Salpetersäure (Tabelle 11) mit dem Unterschiede, daß der Effekt kleiner ist.

Tabelle 11. CH_3COOH-Einfluß auf die Ca-Emission $[CaCl_2] = 10^{-2}$

$[CH_3COOH]$	$E_{422,7}$	E_{554}	E_{624}
0	100	100	100
$5 \cdot 10^{-3}$	100	101	100
10^{-2}	102	107	104
$2 \cdot 10^{-2}$	102	103	104
$5 \cdot 10^{-2}$	98	98	94
10^{-1}	95	94	91
$5 \cdot 10^{-1}$	95	90	90
1	95	91	90

Perchlorsäure wirkt ebenfalls ähnlich wie Salpetersäure, doch ist das Emissionsmaximum hier ausgeprägter (Tabelle 12).

Tabelle 12. $HClO_4$-Einfluß auf die Ca-Emission $[CaCl_2] = 10^{-2}$

$[HClO_4]$	$E_{422,7}$	E_{554}	E_{624}
0	100	100	100
$5 \cdot 10^{-3}$	107	106	104
10^{-2}	108	108	108
$2 \cdot 10^{-2}$	104	105	107
$5 \cdot 10^{-2}$	103	101	107
10^{-1}	98	99	104
$5 \cdot 10^{-1}$	97	97	102
1	95	95	98
2	94	91	96

Phosphorsäure wurde als depressionsverursachende Verbindung bei der Erdalkali-Flammenphotometrie schon sehr oft untersucht. Über dieses Problem gibt die ausgezeichnete Arbeit von *Alkemade* und *Voorhuis*[12] gute Auskunft. Mit einigen Literaturangaben übereinstimmend erhielten wir mit steigender Phosphorsäurekonzentration eine Minimumkurve.

Mit zunehmender Schwefelsäurekonzentration sinkt die Emission der Calciumchloridlösung und bleibt von einer bestimmten Konzentration an konstant. Der Knickpunkt der Kurve liegt annähernd beim Verhältnis $S : Ca = 1 : 1$. Nach den Werten der Tabelle 13 ist die Sulfatstörung unabhängig davon, ob man bei Molekülbanden oder Atomlinien mißt. Tabelle 14 zeigt, daß die prozentuale Störung des Sulfats mit steigender Flammentemperatur abnimmt.

Tabelle 13. H_2SO_4-Einfluß auf die Ca-Emission

$[CH_2SO_4]$	$[Ca^{2+}]$ 10^{-3}		$2 \cdot 10^{-3}$		$5 \cdot 10^{-3}$		10^{-2}	
	$E_{422,7}$	E_{554}	$E_{422,7}$	E_{554}	$E_{422,7}$	E_{554}	$E_{422,7}$	E_{554}
0	100	100	100	100	100	100	100	100
$5 \cdot 10^{-4}$	61	58	72	63	90	88	102	94
$7{,}5 \cdot 10^{-4}$	50	50	68	59	83	79	106	91
10^{-3}	50	50	64	54	75	67	102	87
$2 \cdot 10^{-3}$	50	50	53	45	66	60	88	71
$5 \cdot 10^{-3}$	50	50	54	44	51	48	78	59
10^{-2}	50	50	53	45	49	44	63	47
10^{-1}	50	50	53	45	49	44	59	40
1	50	50	53	44	49	44	56	40

Tabelle 14. H_2SO_4-Einfluß auf die Ca-Emission bei verschiedener Temperatur $[CaCl_2] = 10^{-2}$

$[H_2SO_4]$	$E_{422,7}$		E_{554}	
	H_2 O_2 Flamme	H_2 – 48% O_2 + 52% N_2 Flamme	H_2–O_2 Flamme	H_2–48% O_2 + 52% N_2 Flamme
0	100	100	100	100
$5 \cdot 10^{-4}$	102	97	94	88
$7{,}5 \cdot 10^{-4}$	106	90	91	83
10^{-3}	102	86	87	78
$2 \cdot 10^{-3}$	88	80	71	60
$5 \cdot 10^{-3}$	78	42	59	21
10^{-2}	63	36	47	17
10^{-1}	59	23	40	13
1	56	25	40	13

Ammoniumhydroxyd stört bis 1 Mol/l nicht.

Natronlauge vermindert die Emission, und zwar um so mehr, je basischer das versprühte Erdalkalimetall ist.

Alkohole wirken ähnlich wie bei den Alkalimetallen[6]. Äthanol verursacht interessanterweise bis 60 Vol.% bei Atomlinien und Molekülbanden eine gleichartige Wirkung (Tabelle 15), was nach Untersuchungen des einen von uns *(E. P.)* auf Viskositäts- und Oberflächenspannungsänderungen der alkoholischen Lösung und die sich daraus ergebende Veränderung der Zerstäubungsgeschwindigkeit hinweist.

Tabelle 15. Äthanoleinfluß auf die Ca-Emission $[CaCl_2] = 10^{-2}$

Äthanol v/v%	$E_{422,7}$	E_{554}
0	100	100
5	108	112
10	114	113
20	117	118
40	122	120
60	129	128
80	167	153

Bezüglich des Anioneneffektes kann abschließend betont werden, daß die chemische Vorbereitung des Untersuchungsmaterials am vorteilhaftesten so zu führen ist, daß die Lösungen schließlich in mäßiger Konzentration nur Halogenide als Anionen enthalten sollen. Wenn dies nicht möglich ist, kann die Anionenstörung einerseits durch Anwendung eines der störenden Anionen im Überschuß, anderseits im Falle des Phosphates, z. B. durch Hinzufügen von Aluminiumchlorid zur Untersuchungslösung behoben werden[13]. Dieses beseitigt durch Komplexbildung die anomale Anionenstörung (Minimumkurve als Funktion der Konzentration) des Phosphats. Ein moderner Weg ist außerdem noch die Anwendung von Ionenaustauschern zur Entfernung der unerwünschten Anionen.

Zusammenfassung

Die Erfahrungen der Verfasser bei der flammenphotometrischen Bestimmung der Erdalkalien werden mitgeteilt. Die relative Temperatur der Flamme läßt sich aus den gemessenen Emissionen berechnen. Es wurde festgestellt, daß die erregbaren Erdalkaliatome Produkte der thermischen Dissoziation ihrer Oxyde sind. Über den Einfluß einiger Anionen wird berichtet.

Summary

The writers report their findings with regard the flame photometric determination of alkaline earths. The relative temperature can be calculated from the measured emissions. It was shown that the excitable alkaline earth atoms are products of the thermal dissociation of their oxides. The influence of several anions is discussed.

Résumé

Les résultats obtenus par les auteurs lors de la détermination des alcalino-terreux par photométrie de flamme sont communiqués. La température relative de la flamme peut se calculer en fonction des emissions mesurées. Il a été établi que les atomes alcalino-terreux excitables sont produits par la dissociation thermique de leurs oxydes. Les auteurs fournissent des données sur l'influence de quelques anions.

Literatur

[1] *A. J. Hegedüs, T. Millner* und *E. Pungor*, Magyar Kémiai Folyóirat **59**, 304 (1953).

[2] *G. Hermann* und *S. Wegener*, Die Oxykathode. Teil II. Leipzig: J. Ambrosius Barth. 1950.

[3] *Gy. Gergely* und *F. P. Váradi*, Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 182 (1955); Acta Phys. Hung. **5**, 51 (1955).

[4] *J. Adám, K. Ettre, Gy. Gergely* und *F. P. Váradi*, Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 223 (1956); Z. phys. Chem. **207**, 70 (1957).

[5] *E. Pungor* und *A. J. Hegedüs*, Magyar Kémikusok Lapja **9**, 178, 201 (1954).

[6] *E. Pungor, A. J. Hegedüs, I. Konkoly Thege* und *E. É. Zapp*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1247.

[7] *E. Pungor* und *I. Konkoly Thege*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 712.

[8] *E. Pungor* und *A. J. Hegedüs*, Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 308 (1955).

[9] *K. S. Gibson* und *M. M. Balcon*, J. Res. Nat. Bur. Stand. **38**, 601 (1947).

[10] *A. G. Gaydon*, Dissociation Energies. London: Chapman and Hall. 1953.

[11] *E. Pungor* und *I. Konkoly Thege*, Acta Chim. Hung. **13**, 39 (1957).

[12] *C. T. I. Alkemade* und *M. H. Voorhuis*, Z. analyt. Chem. **163**, 91 (1958).

[13] *E. Pungor* und *E. É. Zapp*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 150.

[14] *R. Mavrodineanu* und *H. Boiteux*, L'analyse spectrale quantitative par la flamme. Paris: Masson. 1954.

Aus dem Institut für analytische Chemie der Chemisch-Technologischen Hochschule, Pardubice, ČSR

Papierchromatographische Trennung und Identifizierung der Fettsäuren C_1 bis C_6 als 2,4-Dinitrobenzylester

Von

M. Jureček, J. Churáček und V. Červinka

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 2. Juli 1959)

Zur Identifizierung von Fettsäuren werden verschiedene Derivate verwendet, deren physikalische Konstanten, insbesondere der Schmelzpunkt, bestimmt werden. Diese Art ist ohne weiteres anwendbar, wenn einzelne Fettsäuren vorhanden sind. Wenn aber mehrere Säuren in einem Gemisch vorkommen, muß man dieses zuerst in einzelne Individuen trennen und erst dann jede Säure in das entsprechende Derivat überführen.

Die Trennung mit klassischen Methoden ist schwierig und beansprucht eine ziemlich große Menge Ausgangsmaterial. Chromatographische Methoden sind ein modernes, sehr wirkungsvolles Mittel zur Trennung von Stoffen derselben Körperklasse oder ähnlicher Typen.

Die Trennung der niederen Fettsäuren wurde lange Zeit mit Rücksicht auf ihre Flüchtigkeit ausschließlich mit Hilfe der Säulenchromatographie vorgenommen. Die Trennung freier Säuren auf dem chromatographischen Papier ist umständlich; einerseits bilden sich durch den Einfluß von Adsorption, Dimerisation und Dissoziation verwischte Flecke mit Schwänzen, anderseits hängt die Größe der R_f-Werte außer von der Konzentration auch von der Flüchtigkeit der Säure ab[1]. In letzter Zeit wurden die p-Phenylazophenacylester zur Trennung der Carbonsäuren auf einer mit Kieselsäure gefüllten Säule vorgeschlagen[2]. Diese Derivate eignen sich jedoch nicht zur papierchromatographischen Trennung niederer Fettsäuren, weil die Unterschiede der R_f-Werte homologer Säuren zu klein sind.

Zur papierchromatographischen Trennung der Fettsäuren wurden später einige Salze verwendet, namentlich Natriumsalze[3], Ammoniumsalze[4] und Äthylammoniumsalze[5]. Als bewegliche Phase dient mit

wäßrigem Ammoniak bzw. Äthylaminlösung gesättigtes n-Butanol. Das Entwickeln des Chromatogramms dauert 10 bis 12 Stunden. Zum Nachweis von Salzen auf dem Chromatogramm wurden gewöhnlich acidobasische Indikatoren benutzt. Der acido-basische Nachweis hat mehrere Nachteile. Das Trocknen der Chromatogramme erfordert eine große Aufmerksamkeit, denn der Erfolg des Nachweises hängt in hohem Maße davon ab. Wenn das freie Amin aus dem Papier nicht vollkommen entfernt ist, verfärbt sich gleichmäßig das ganze Chromatogramm; wenn aber das Chromatogramm bei zu hoher Temperatur getrocknet wird, verflüchtigen sich die Ammonium- bzw. Äthylammoniumsalze. Die Verfärbung der Flecke ist unbeständig und verschwindet nach einiger Zeit. Die Äthylammoniumsalze werden besser mit Ninhydrin nachgewiesen.

Außer den Salzen werden zur papierchromatographischen Trennung der Fettsäuren einige Derivate verwendet, und zwar Hydroxamsäuren[6], Hydrazide[7] und Anilide[8]. Die Hydroxamsäuren werden als intensiv gefärbte komplexe Eisen(III)salze und die Hydrazide durch Reduktion des Silbernitrats nachgewiesen. Die Flecke der Anilide sind im UV-Licht sichtbar. Der Nachteil dieser Verfahren besteht darin, daß man die genannten Derivate über Acylchloride oder Ester herstellen muß. Der Arbeitsgang ist zu kompliziert und Schwierigkeiten treten besonders auf, wenn die Fettsäuren in verd. wäßriger Lösung vorliegen.

Die Unvollkommenheiten der bisher bekannten Methoden führten uns zur Ausarbeitung einer neuen Methode, die mit einfachen Mitteln in kurzer Zeit die Trennung und Identifizierung eines Gemisches niederer Fettsäuren, von Ameisensäure bis zu Capronsäure, gestattet. Die Methode beruht darauf, daß die Natriumsalze der Fettsäuren durch Einwirkung von 2,4-Dinitrobenzylbromid in 2,4-Dinitrobenzylester übergeführt und papierchromatographisch getrennt werden. Zur Trennung der Ester der Säuren C_2 bis C_6 wird ein mit Formamid getränktes Papier und ein Gemisch von Cyklohexan und Benzol als bewegliche Phase verwendet. Die Flecke der 2,4-Dinitrobenzylester werden mit einer Natriumäthoxydlösung in Aceton nachgewiesen und mittels der Testsubstanzen identifiziert. Der Ameisensäure-2,4-dinitrobenzylester bleibt in diesem System an dem Start. Zum Nachweis der Ameisensäure neben ihren Homologen wird ein mit Petroleum getränktes Papier benutzt und zum Entwickeln des Chromatogramms dient wäßriger Alkohol.

Experimenteller Teil

Fettsäuren

Sämtliche Ausgangssäuren waren p. a.-Präparate. Die Natriumsalze wurden durch Neutralisation der wäßrigen Fettsäurelösungen mit Natronlauge gegen Phenolphthalein und Eindampfen zur Trockne hergestellt.

Reagenzien

1. *2,4-Dinitrobenzylbromid* wurde durch Nitrieren des Benzylchlorids in zwei Stufen und nachfolgende Umsetzung des gebildeten 2,4-Dinitrobenzylchlorids mit Natriumbromid hergestellt[9–11].

In der ersten Stufe wurde das p-Nitrobenzylchlorid durch Nitrieren des Benzylchlorids mit 92%iger Salpetersäure bei — 15° C gewonnen. Durch diese Reaktion entstehen zwei Isomere, das o-Nitro- und p-Nitrobenzylchlorid. Das kristallisierte p-Nitrobenzylchlorid wurde von dem öligen o-Nitroderivat durch Filtrieren getrennt und mit Wasser ausgewaschen. Die Ausbeute war 46% der Theorie. Das Produkt wurde aus Alkohol umkristallisiert. Fp. 71° C.

In der zweiten Stufe wurde das p-Nitrobenzylchlorid mit einem Gemisch aus konz. Schwefelsäure und 77%iger Salpetersäure bei 20 bis 25° C weiter nitriert. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen und 12 Stunden stehengelassen. Das rohe 2,4-Dinitrobenzylchlorid wurde aus siedendem Äther umgelöst. Die Ausbeute war 73% der Theorie auf p-Nitrobenzylchlorid bezogen. Fp. 32° C.

Das 2,4-Dinitrobenzylchlorid wurde dann durch 6stündiges Kochen mit Natriumbromid in wäßrig-acetonischer Lösung unter Rückfluß in 2,4-Dinitrobenzylbromid umgesetzt. Das Reaktionsgemisch bestand aus zwei Schichten, der oberen wäßrig-acetonischen und der unteren öligen. Außerdem enthielt es das ausgeschiedene Natriumchlorid. Aceton wurde abdestilliert und das Öl in Äther aufgenommen. Nach dem Einengen der ätherischen Lösung schieden sich gelbliche Kristalle des rohen 2,4-Dinitrobenzylbromids aus, die aus einem Gemisch gleicher Raumteile Alkohol und Äther umkristallisiert wurden. Die Ausbeute war 76% der Theorie auf 2,4-Dinitrobenzylchlorid bezogen. Zur Darstellung von Derivaten wurde das Produkt durch Kristallisation aus Alkohol + Äther (1 : 1) bis zum konstanten Schmelzpunkt gereinigt. Fp. 43,5° C.

Analyse: Gefunden 30,44% Br, berechnet 30,61% Br.

2. *Ternäres Gemisch von Benzol, Äthanol und Wasser* (9 : 16 : 2) zum Auflösen des 2,4-Dinitrobenzylbromids und der Natriumsalze von Fettsäuren.

3. *25%ige alkoholische Formamidlösung.*

4. *Petroleum* (Fraktion Kp. 190 bis 220° C).

5. *Gemisch von Cyklohexan und Benzol* im Verhältnis 25 : 1.

6. *Nachweisreagenzien. Die acetonische Natriumäthoxydlösung* wurde stets frisch aus einer gesättigten alkoholischen Natriumäthoxydlösung (Vorratslösung) und reinem Aceton durch Mischen im Verhältnis etwa 1 : 3 hergestellt. Das Gemisch wurde mit Äthanol bis zur Klärung versetzt.

Zinn(II)-chloridlösung: 0,7 g Zinn(II)-chlorid ($SnCl_2 \cdot 2\,H_2O$) wurde in 15 ml konz. Salzsäure gelöst und mit 150 ml Wasser verdünnt.

Ehrlichs Reagens: 1 g p-Dimethylaminobenzaldehyd wurde unter Zusatz von 5 ml konz. Salzsäure in 95 ml Äthanol gelöst.

Die Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester

Die 2,4-Dinitrobenzylester der Fettsäuren wurden zuerst durch Kochen des 2,4-Dinitrobenzylbromids mit einem kleinen Überschuß des Natriumsalzes der Fettsäure in 70%igem wäßrigem Alkohol unter Rückfluß dargestellt. Der Reaktionsverlauf war jedoch zu langsam; denn auch nach mehrstündigem Kochen befand sich im Reaktionsgemisch noch nicht umgesetztes Reagens. Daher wurden verschiedene Lösungsmittelgemische versucht, die einen höheren Siedepunkt und ein besseres Lösungsvermögen als der 70%ige Alkohol sowohl für die Natriumsalze der Fettsäuren als auch für das Reagens besitzen. Am besten bewährte sich das ternäre Gemisch von Benzol, Äthanol und Wasser im Verhältnis 9 : 16 : 2. Dadurch wurde eine Konzentrationserhöhung der reagierenden Komponenten erreicht, aber gleichzeitig erniedrigte sich die Reaktionstemperatur. Die Umsetzung wurde deshalb später in zugeschmolzenen Ampullen im kochenden Wasserbad durchgeführt. Dadurch wurde die Reaktionsgeschwindigkeit wesentlich vergrößert, so daß das gesamte Reagens bei einem kleinen Überschuß an Natriumsalz in einer Stunde ausreagierte.

Der Arbeitsgang: In ein Mikroreagensglas wurden $5 \cdot 10^{-4}$ Mol Natriumsalz der Fettsäure und $4 \cdot 10^{-4}$ Mol 2,4-Dinitrobenzylbromid gebracht und in genügender Menge des ternären Lösungsmittelgemisches unter Erwärmen gelöst. Das Reagensglas wurde zugeschmolzen und im siedenden Wasserbad 1 Stunde erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Ampulle geöffnet und das Lösungsmittel auf dem Wasserbade und schließlich im Trockenschrank bei 100° C abgedampft. Die 2,4-Dinitrobenzylester wurden, sofern sie nach dem Erkalten erstarrten, aus Äthanol umgelöst.

Die Papierchromatographie der Derivate

1. *Die Wahl der chromatographischen Systeme.* Zur Trennung und Identifizierung von 2,4-Dinitrobenzylestern der Fettsäuren C_1 bis C_6 wurden verschiedene Lösungsmittelsysteme untersucht. Die beste Trennung wurde auf mit 25%iger alkoholischer Formamidlösung getränktem Whatman-Papier Nr. 1 erreicht (Abb. 1). Die Imprägnierung des Papiers mit einer verdünnteren Formamidlösung hatte eine unvollkommene Trennung der höheren Säuren zu Folge. Als bewegliche Phase bewährte sich ein Gemisch von Cyklohexan und Benzol im Verhältnis 25 : 1. Bei Anwendung reinen Cyklohexans entstanden ausgestreckte Flecke, dagegen sind die Ester in mehr Benzol enthaltenden Gemischen zu leicht löslich, so daß die Trennung des Valeriansäure- und Capronsäureesters nicht gelang.

Um die Ameisensäure identifizieren zu können, wurden die Phasen umgekehrt. Das Papier wurde mit verschiedenen Gemischen von Pe-

troleum und Hexan als unpolarer Phase imprägniert. Am geeignetsten erwies sich die Petroleum-Fraktion 190 bis 220° C allein. Als bewegliche Phase bewährte sich 65%iges wäßriges Äthanol. In diesem Lösungsmittelsystem wandert der Ameisensäure-2,4-dinitrobenzylester als erster,

Abb. 1. Chromatogramm der Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester
Papier Whatman Nr. 1, mit 25%igem Formamid getränkt; bewegliche Phase Cyklohexan + Benzol (25 : 1); t = 21° C
1–6, *9*, *10* Individuelle Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester, *7* Gemisch von Fettsäure-2,4-dinitrobenzylestern der n-Reihe, *8* Gemisch von 2,4-Dinitrobenzylestern der Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Isobuttersäure, Isovaleriansäure und Capronsäure, *11* (*J*) 2,4-Dinitrobenzylbromid
A Ameisensäure-, *B* Essigsäure-, *C* Propionsäure-, *D* Buttersäure-, *E* Valeriansäure-, *F* Capronsäure-, *G* Isovaleriansäure-, *H* Isobuttersäure-2,4-dinitrobenzylester

homologe Ester der Säuren C_2 bis C_6 können jedoch voneinander nicht getrennt werden (Abb. 2).

2. *Die Nachweisreaktionen.* Die ersten Versuche zum Nachweis der 2,4-Dinitrobenzylester wurden auf der Grundlage der Reaktion von *Janovsky* durchgeführt. Das Chromatogramm wurde mit Natronlauge und Aceton besprüht. Die Flecke waren aber zu schwach. Als besonders vorteilhaftes Nachweisreagens zeigte sich dagegen eine acetonische Natriumäthoxydlösung. Die Ester erschienen als grüne Flecke, die bald in tiefes Braun übergingen. Das 2,4-Dinitrobenzylbromid bildete

zunächst einen ebenfalls grünen, dann purpurroten Fleck, der allmählich braun wurde.

Es wurde auch versucht, die 2,4-Dinitrobenzylester auf dem Chromatogramm durch Besprühen mit Zinn(II)-chloridlösung und dann mit Ehrlichschem Reagens nachzuweisen; es entstanden intensiv gelbe Flecke auf weißem Hintergrund.

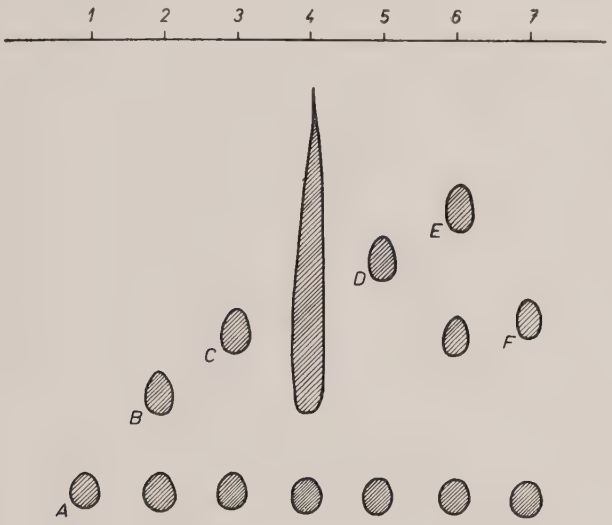


Abb. 2. Chromatogramm der Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester
Papier Whatman Nr. 1, mit Petroleum getränkt; bewegliche Phase 65%iges wäßriges Äthanol; t = 21° C
2,4-Dinitrobenzylester: *1* Ameisensäure (*A*), *2* Ameisensäure, Essigsäure (*B*), *3* Ameisensäure, Propionsäure (*C*), *4* Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure, *5* Ameisensäure, Buttersäure (*D*), *6* Ameisensäure, Propionsäure, Valeriansäure (*E*), *7* Ameisensäure, 2,4-Dinitrobenzylbromid (*F*)

Durch Bestrahlung des Chromatogramms mit unfiltriertem Licht einer Quecksilberlampe entstanden in 30 Minuten gelbe, auch im Tageslicht sichtbare Flecke. Im auffallenden UV-Lichte (filtriertes Licht der Quecksilberlampe) erschienen auf dem Chromatogramm dunkle Flecke.

Die Empfindlichkeit des Nachweises unter Verwendung von Natriumäthoxyd in Aceton wurde an dem Essigsäure-2,4-dinitrobenzylester erprobt. Auf das Papier wurden verschiedene, 0,25 bis 3 μg Essigsäure entsprechende Mengen des Esters aufgetragen. Nach dem Entwickeln wurde das Chromatogramm mit acetonischer Natriumäthoxydlösung besprüht. Bei Anwesenheit von 1 μg Essigsäure war der Fleck noch deutlich sichtbar.

Chromatographische Ultramikroanalyse eines Gemisches von Fettsäuren C_1 bis C_6

Die Darstellung der 2,4-Dinitrobenzylester. Von der untersuchten Lösung der Fettsäuren wurde etwa $^1/_{10}$ des Volumens abgegossen und der Rest mit Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert. Man wählt die Normalität der Lauge nach der zu erwartenden Menge der Säuren in der Lösung. Die neutralisierte Lösung wird zur Trockne abgedampft. Der rot gefärbte Rückstand wird mit dem früher abgetrennten Anteil der freien Säuren versetzt und nochmals zur Trockne abgedampft. Das Salzgemisch wird in der nötigen Menge des ternären Lösungsmittelgemisches in der Wärme gelöst und mit der berechneten Menge 2,4-Dinitrobenzylbromid versetzt. Man berechnet die Menge des Reagens nach dem Ergebnis der Titration, das auf die höchste in Frage kommende Fettsäure bezogen wird. Dadurch ist die quantitative Umsetzung des Reagens gewährleistet. Das Reaktionsgemisch wird in einer zugeschmolzenen Ampulle im kochenden Wasserbad 1 Stunde erhitzt. Die Ampulle wird unter fließendem Wasser abgekühlt und nachher geöffnet, das Reaktionsgemisch in ein kurzes Reagensglas übergegossen und die Ampulle mit wenig Alkohol ausgespült. Die Esterlösung wird mit einer Spatelspitze aktiver Kohle versetzt, zum Sieden erhitzt und filtriert. Das Lösungsmittel wird bei 100° C abgedampft, der ölige Rückstand mit Benzol aufgenommen, die benzolische Lösung von den Kristallen des Natriumbromids abgegossen und auf eine etwa 0,01-m Lösung eingestellt (berechnet auf die höchste zu erwartende Säure).

Die Chromatographie. Whatman-Papier Nr. 1 wird mit 25%iger alkoholischer Formamidlösung getränkt und 15 Minuten an der Luft bei Raumtemperatur getrocknet. Auf den Start werden 2 bis 6 μl der benzolischen Lösung des unbekannten Estergemisches, wie auch das gleiche Volumen einer etwa 0,01-m benzolischen Lösung authentischer Ester aufgetragen. Das Chromatogramm wird in die Kammer gehängt und 30 Minuten nach der Imprägnierung die bewegliche Phase zugelassen. Das Chromatogramm wird 1 bis $1^1/_2$ Stunden absteigend entwickelt. Die Lösungsmittelfront wird angezeichnet und das Chromatogramm beiderseits mit dem Nachweisreagens besprüht.

Wenn ein Fleck auf dem Start erscheint, wiederholt man den Versuch mit umgekehrten Phasen. Whatman-Papier Nr. 1 wird mit Petroleum benetzt und der Überschuß des Lösungsmittels zwischen zwei Filtrierpapieren beseitigt. Nachdem das Papier ein marmorartiges Aussehen angenommen hat (etwa nach 1 Stunde), wird auf den Start die angeführte Menge der Benzollösungen aufgetragen. Der gegenüberliegende Rand des Papiers wird mit Zacken versehen. Das Chromatogramm läßt man 12 bis 14 Stunden entwickeln. Nach dem Trocknen wird das Chromato-

gramm mit dem Nachweisreagens besprüht. Schwache Flecke sind bei der Beobachtung im UV-Lichte deutlicher.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der chromatographischen Trennung der 2,4-Dinitrobenzylester niederer Fettsäuren zeigen, daß man dieses Verfahren zum Nachweis der einzelnen Säuren sowie ihrer Gemische vorteilhaft verwenden kann. In der homologen Reihe der Säuren steigen die R_f-Werte bei Anwendung des Systems Formamid—Cyklohexan + Benzol mit zunehmender Anzahl der Kohlenstoffatome (Tabelle 1). Die Unterschiede zwischen den R_f-Werten der Ester homologer Säuren C_1 bis C_6 sind genügend groß, um eine sichere Identifizierung zu ermöglichen. Die Unterschiede der R_f-Werte von Estern der isomeren Säuren sind im Gegensatz dazu zu klein, um sie voneinander trennen zu können. Bei der Papierchromatographie verhalten sich auch Isomere anderer Körperklassen analog.

Tabelle 1. R_f-Werte der Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester
Papier Whatman Nr. 1, mit 25%igem Formamid getränkt; bewegliche Phase Cyklohexan + Benzol (21 : 1); t = 21° C

Carbonsäure-2,4-dinitrobenzylester	R_f	Carbonsäure-2,4-dinitrobenzylester	R_f
Ameisensäure	0,00	Valeriansäure	0,73
Essigsäure	0,13	Isovaleriansäure	0,73
Propionsäure	0,34	Capronsäure	0,81
Buttersäure	0,56		
Isobuttersäure	0,58	2,4-Dinitrobenzylbromid	0,35

Die R_M-Werte der Ester homologer geradkettiger Säuren wurden errechnet und graphisch in Abhängigkeit von der Kohlenstoffanzahl dargestellt (Abb. 3). Diese Abhängigkeit ist nicht einmal in den Grenzen C_2 bis C_5 ganz linear. Dies stimmt mit den Beobachtungen anderer Autoren[12] überein. Da der R_f-Wert des Capronsäureesters größer als 0,8 ist, kann man im System Formamid—Cyklohexan + Benzol eine scharfe Trennung höherer homologer Säuren nicht erwarten.

In dem angeführten Lösungsmittelsystem bleibt der Ameisensäure-2,4-dinitrobenzylester am Start haften. Trotzdem kann man nicht aus der Lage eines Fleckes am Start auf die Anwesenheit der Ameisensäure schließen, denn auch die 2,4-Dinitrobenzylester anderer, besonders aromatischer Säuren verhalten sich chromatographisch ähnlich. Auch andere, in der zu analysierenden Probe vorhandene Substanzen können bei der Chromatographie am Start bleiben. Wenn sich nach dem Entwickeln des Chromatogramms einer unbekannten Probe ein Fleck am

Start befindet, ist es nötig, einen neuen Versuch im System Petroleum-65% Äthanol anzustellen, damit die eventuell vorhandene Ameisensäure nachgewiesen werden kann.

Die R_f-Werte des 2,4-Dinitrobenzylbromids und des Propionsäure-2,4-dinitrobenzylesters sind fast gleich. Deshalb soll man bei der Herstellung der Ester stets einen kleinen Überschuß der Natriumsalze benutzen, damit das Reagens quantitativ umgesetzt wird. Das freie Reagens ist auf dem Chromatogramm an der Farbe des Fleckes zu erkennen. Der Nachweis der Propionsäure in Anwesenheit des Reagens ist allerdings unmöglich.

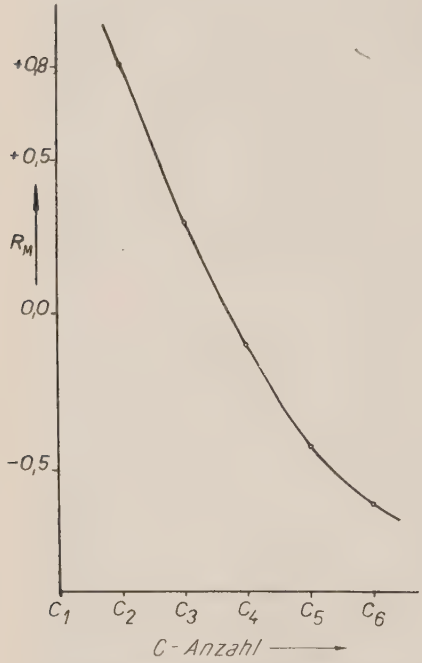


Abb. 3. Abhängigkeit der R_M-Werte von 2,4-Dinitrobenzylestern von der Kohlenstoffanzahl der n-Carbonsäuren

Die Identifizierung der Säuren wird am besten derart vorgenommen, daß auf den Start des Chromatogramms gleichzeitig die vorbehandelte Probe und ein Gemisch authentischer Ester homologer Säuren als Vergleichssubstanzen aufgetragen werden. Nach dem Entwickeln des Chromatogramms vergleicht man die Lage der Flecke aus der untersuchten Probe mit der Lage der Flecke einzelner Glieder der homologen Reihe. Auf diese Art ist es möglich, mehrere Säuren auf einmal in dem untersuchten Gemisch zu identifizieren. Aus der Intensität der Flecke kann man auf die relativen Mengen der Säuren in dem Gemische schließen.

Zum Nachweis der 2,4-Dinitrobenzylester auf dem Chromatogramm bewährte sich am besten die Reaktion mit acetonischer Natriumäthoxydlösung. Die Reduktion der Nitrogruppen mit Zinn(II)-chloridlösung und die nachfolgende Nachweisreaktion der Aminogruppen mit Ehrlichschem Reagens ist zwar empfindlicher, aber komplizierter und langwieriger. Die Bestrahlung des Chromatogramms mit unfiltriertem UV-Lichte ist wenig empfindlich. Bei direkter Beobachtung des Chromatogramms in filtriertem UV-Lichte ist es nötig, die Flecke anzuzeichnen.

Die entwickelte Methode ist in mancher Hinsicht den bisherigen Methoden überlegen. Die Ausführung der Analyse wurde auf 3 bis $3^1/_2$ Stunden verkürzt. Die Empfindlichkeit ist etwa viermal größer als bei der Methode der Hydroxamsäuren und etwa 50mal größer als bei

den auf dem Prinzip des acido-basischen Nachweises der Salze beruhenden Methoden. Die Herstellung der Ester ist einfach, nachdem sie nur eine Operation benötigt.

Das beschriebene Verfahren eignet sich für die Analyse sehr verd. Lösungen von Fettsäuren, die bei der Wasserdampfdestillation hydrolytisch oder oxydativ abgebauter Naturstoffe oder synthetischer Produkte anfallen. Als Beispiel kann die Identifizierung der höheren, am aromatischen oder hydroaromatischen Ring als Seitenketten gebundenen Alkylgruppen angeführt werden[13].

Da die 2,4-Dinitrobenzylester der Ameisensäure, Essigsäure und Propionsäure feste Substanzen sind, können sie auch zur Identifizierung dieser Säuren durch Bestimmung des Schmelzpunktes dienen (Tabelle 2).

Tabelle 2. Feste Fettsäure-2,4-dinitrobenzylester

Carbonsäure-2,4-dinitrobenzylester	Fp. °C (Kofler)	% C		% H		% N	
		ber.	gef.	ber.	gef.	ber.	gef.
Ameisensäure..	114 –115	42,48	42,29	2,67	2,52	12,39	12,21
Essigsäure	94—95	45,02	44,91	3,35	3,42	11,66	11,48
Propionsäure ..	64,5—65,5	47,25	47,11	3,96	4,04	11,02	11,10

Die Ester anderer untersuchter Säuren sind bei Raumtemperatur ölig. Deshalb können die 2,4-Dinitrobenzylester nicht als allgemein geeignete Derivate für die Identifizierung niederer Carbonsäuren durch den Schmelzpunkt angesehen werden.

Zusammenfassung

Eine papierchromatographische Ultramikromethode zur Trennung und Identifizierung der Fettsäuren C_1 bis C_6 wurde entwickelt. Die Natriumsalze der Fettsäuren werden mit 2,4-Dinitrobenzylbromid in 2,4-Dinitrobenzylester übergeführt, die der chromatographischen Trennung auf einem mit Formamid getränkten Papier unterworfen werden. Als bewegliche Phase wird ein Gemisch von Cyklohexan und Benzol verwendet. Zum Nachweis der Derivate wird das Chromatogramm mit einer acetonischen Natriumäthoxydlösung besprüht. Auf diese Weise gelang es, alle geradkettigen Säuren C_1 bis C_6 voneinander zu trennen, isomere Säuren mit gleicher Kohlenstoffanzahl sind dagegen so nicht trennbar. Der Ameisensäure-2,4-dinitrobenzylester bleibt an dem Start. Auf einem mit Petroleum getränkten Papier und unter Verwendung von 65%igem Äthanol als bewegliche Phase ist es möglich, die Ameisensäure von den homologen Säuren zu trennen. Die Methode ist einfach, schnell und empfindlich. Man kann weniger als 1 μg Essigsäure sicher nachweisen.

Summary

A paper chromatographic ultra micro method was developed for the separation and identification of the fatty acids C_1–C_6. The sodium salts of the fatty acids are converted by means of 2,4-dinitrobenzyl bromide into 2,4-dinitrobenzyl esters, which are subjected to chromatographic separation on paper impregnated with formamide. The moving phase used was a mixture of cyclohexane and benzene. To detect the derivatives, the chromatogram was sprayed with an acetone solution of sodium ethoxide. In this way it was possible to separate all straight-chain C_1–C_6 acids from each other. However, isomeric acids with the same number of carbon atoms are not separable in this way. The formic 2,4-dinitrobenzyl ester stays at the starting place. Formic acid can be separated from the homologous acids on paper impregnated with petroleum and with 65% ethanol as mobile phase. The method is simple, rapid, sensitive. Less than 1 μg acetic acid can be detected with certainty.

Résumé

Les auteurs ont mis au point une ultramicrométhode pour la séparation et l'identification des acides gras de C_1 à C_6 par chromatographie sur papier. Les sels de sodium des acides gras sont transformés en esters dinitro-2,4 benzyliques à l'aide du bromure de dinitro-2,4 benzyle et sont soumis à la séparation chromatographique sur papier imbibé de formamide. On emploie comme phase mobile un mélange de cyclohexane et de benzène. Pour identifier les dérivés on pulvérise sur les chromatogrammes une solution acétonique d'éthoxyde de sodium. De cette façon il est possible de séparer les uns des autres tous les acides à chaine droite de C_1 à C_6 mais non pas les acides isomères possédant le même nombre de carbones. L'ester dinitro-2,4 benzylique de l'acide formique reste sur place au point de départ. En utilisant un papier imbibé de pétrole et de l'éthanol à 65% comme phase mobile il est possible de séparer l'acide formique des acides homologues. La méthode est simple rapide et sensible. Il est possible d'identifier sûrement moins de 1 μg d'acide acétique.

Literatur

[1] *S. R. Elsden*, Biochemical Soc. Symposia **3**, 74 (1949).

[2] *R. E. Kepner, A. D. Webb, R. L. King* und *A. D. Bond*, Analyt. Chemistry **29**, 1162 (1957).

[3] *F. Brown* und *L. P. Hall*, Nature **166**, 66 (1950).

[4] *E. P. Kennedy* und *H. A. Barker*, Analyt. Chemistry **23**, 1033 (1951).

[5] *B. Lindquist* und *T. Storgärds*, Acta Chem. Scand. **7**, 87 (1953).

[6] *K. Fink* und *R. H. Fink*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **70**, 654 (1949).

[7] *K. Satake* und *T. Seki*, J. Japan Chem. **4**, 557 (1950); ref. Chem. Abstr. **45**, 4604 (1951).

[8] *A. P. Jonge*, Chem. Weekbl. **52**, 37 (1956).

[9] *E. Nölting*, Ber. dtsch. chem. Ges. **17**, 385 (1884).

[10] *F. Beilstein* und *P. Geitner*, Ann. Chem. **139**, 331 (1866); **224**, 100 (1884).

[11] *S. Sugden*, J. Chem. Soc. **1951**, 1360.

[12] *F. A. Isherwood* und *C. S. Hanes*, Biochem. J. **55**, 824 (1953).

[13] *M. Jureček, M. Souček, J. Churáček* und *F. Renger*, Z. analyt. Chem. **165**, 109 (1959).

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgen. Technischen Hochschule, Zürich

Notiz über einen Strömungsmesser für kleine Gasdurchflußmengen

Von

W. Simon und **G. H. Lyssy**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 6. Juli 1959)

Im Zusammenhang mit den in der Mikroelementaranalyse verwendeten Verbrennungsapparaturen stellt sich das Problem der Messung von Gasströmungsgeschwindigkeiten von wenigen cm^3/min. Von *A. Guyer*, *E. Graf* und *A. Guyer* jr.[1,2] ist ein Strömungsmesser vorgeschlagen worden, der auf der Messung des Druckabfalles beruht, den strömendes Gas an einer statischen Schicht von Glaskugeln erleidet. In der vorliegenden Notiz wird über einen auf demselben Prinzip beruhenden Strömungsmesser berichtet, der sich vor allem für die Anwendung im Gebiet der Mikroelementaranalyse bzw. für kleine Gasströme besonders eignet.

Eine schematische Darstellung des verwendeten Strömungsmessers ist in Abb. 1 wiedergegeben. Der zu messende Gasstrom wird bei *1* eingeleitet, bewegt sich von oben nach unten durch die mit Glaskugeln gefüllte Kapillare *2* (innerer Durchmesser 3,5 mm) und tritt bei *3* aus. Zur Messung des Druckabfalles an der Glaskugelschicht dient ein Manometer bestehend aus Kapillare *4* und einer Füllung von Tetraäthylenglykoldibutyläther *6*[3,4]. Aus der Beziehung zur Berechnung des Druckabfalles an ähnlich gepackten Kolonnen[5,6] läßt sich bei isothermem Verhalten leicht ableiten, daß die Druckdifferenz am Strömungswiderstand proportional der Strömungsgeschwindigkeit des Gases ist, solange der Druckabfall relativ zum absoluten Druck, bei dem der Strömungswiderstand arbeitet, zu vernachlässigen ist und solange es sich um eine laminare Strömung handelt[1,4]. Im weiteren ist der Druckabfall eine Funktion des Durchmessers der Glaskugeln, der Viskosität des durchströmenden Gases, sowie des Durchmessers und der Höhe des Strömungswiderstandes.

In Abb. 2 ist für einen Druckabfall von 20 cm Flüssigkeitssäule und einen Durchmesser der Kapillare *2* von 3,5 mm die Durchflußmenge von

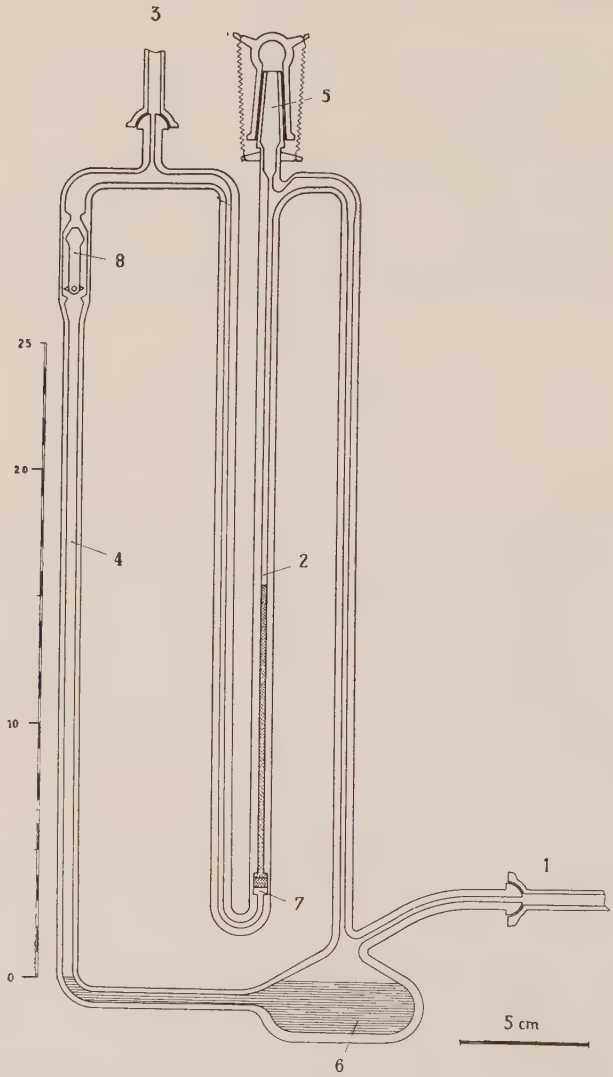


Abb. 1. Schematische Darstellung des Strömungsmessers
1 Gaseintritt, *2* Glaspulverwiderstand, *3* Gasaustritt, *4* Manometerrohr, *5* Einfüllöffnung für Glaskugeln, *6* Manometerflüssigkeit, *7* Glasfritte G 1, *8* Sicherheitsventil

Stickstoff in Funktion der Kugelschichthöhe für sechs Glaskugeldurchmesser angegeben. Diese Darstellung gibt die Möglichkeit der raschen Abschätzung der für ein gegebenes Meßproblem notwendigen Größen

für Kugelschichthöhe und Kugeldurchmesser. In Abb. 3 sind die Strömungsgeschwindigkeiten von Sauerstoff, Stickstoff und Luft in Funktion des Druckabfalles für einen vorgegebenen Strömungswiderstand dar-

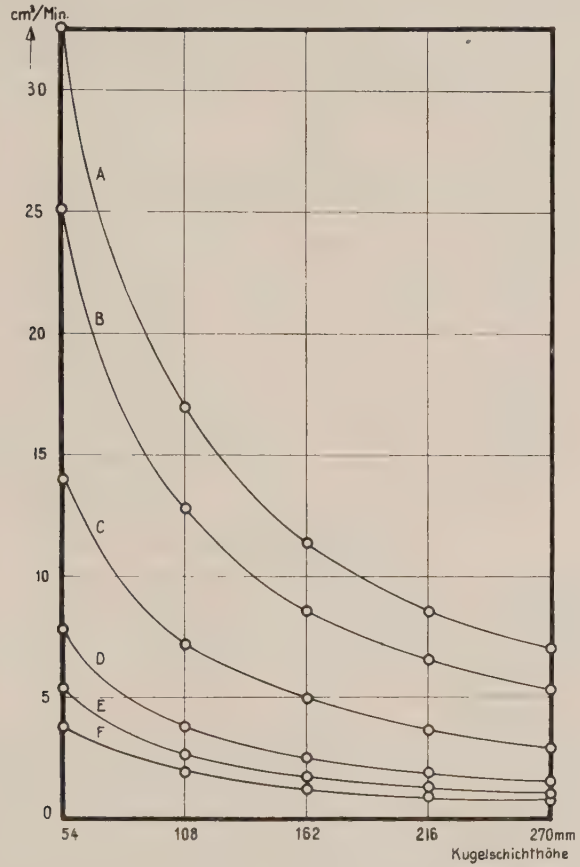


Abb. 2. Strömungsgeschwindigkeit von Stickstoff in Funktion der Kugelschichthöhe
Kugeldurchmesser in Millimeter: *A* 0,20 bis 0,25, *B* 0,15 bis 0,20, *C* 0,12 bis 0,15, *D* 0,09 bis 0,10, *E* 0,075 bis 0,090, *F* 0,050 bis 0,075
Anmerkung zu Abb. 2: Die angegebenen Glaskugeldurchmesser entsprechen Siebfraktionen von Scotch-light-Kugeln der Minnesota Mining Corp. Diese Kugeln fanden ohne weitere Vorbehandlung Verwendung. Die Strömungsgeschwindigkeiten beziehen sich auf 730 Torr und 20° C

gestellt. Die Abweichungen von der Linearität betragen weniger als $\pm$ 1,8%. Es läßt sich somit eine für die meisten Verwendungszwecke befriedigende Eichung des Strömungsmessers durch Messung der Strömungsgeschwindigkeit bei einem einzigen vorgegebenen Druckabfall erreichen[1]. Eine zeitliche Veränderung der Eichkonstanten konnte bei Verwendung staubfreier Gase nicht beobachtet werden.

Der Strömungsmesser wurde derart gestaltet, daß bei *5* (Abb. 1) der Glaskugelwiderstand bequem ausgewechselt werden kann. Eine Entfernung der Glaskugeln erfolgt dabei am einfachsten mittels einer dünnwandigen Kapillare unter Anlegen von Vakuum. Es ist somit möglich, am gleichen Strömungsmesser durch Änderung von Kugelschichthöhe, Kugeldurchmesser und Druckabfall die Strömungsgeschwindigkeiten in weiten Grenzen zu variieren.

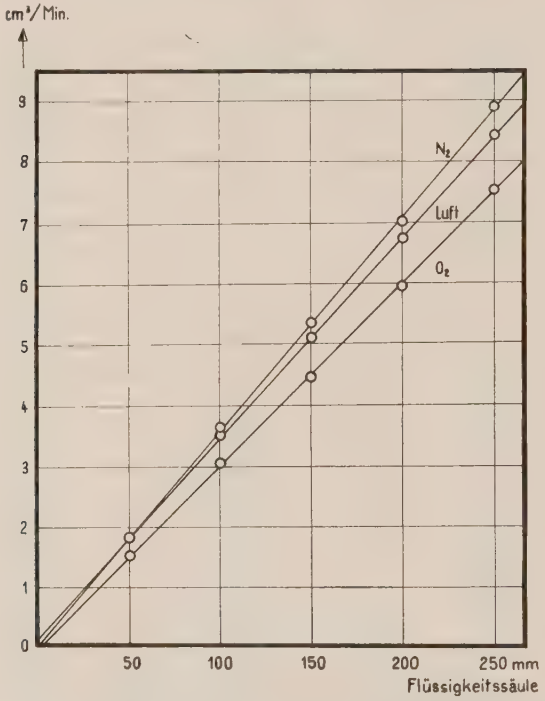


Abb. 3. Strömungsgeschwindigkeit in Funktion des Druckabfalls am Strömungswiderstand
Anmerkung zu Abb. 3: Die Kugelschichthöhe betrug 270 mm und der Kugeldurchmesser 0,20 bis 0,25 mm (vgl. Anm. zu Abb. 2)

Zur Erreichung eines konstanten Gasstromes muß der Druck am Eingang des Strömungsmessers möglichst konstant gehalten werden. Bei unseren Versuchen wurde das einer Druckflasche entnommene Gas durch Serienschaltung von zwei Membranreduzierventilen auf zirka 1 atü entspannt. Vor dem Strömungsmesser erfolgte eine Feineinstellung des Gasstromes mit Hilfe eines Präzisions-Nadelventils. Mit einer solchen Anordnung konnten auch kleine Gasdurchflußgeschwindigkeiten über längere Zeit sehr gut konstant gehalten werden.

Die Standardabweichung der Strömungsgeschwindigkeit betrug 2,4% für eine durchschnittliche Durchflußmenge von 1,65 cm³/min und eine

Zeitspanne von 14 Tagen. Während dieser ganzen Versuchsperiode erfolgte keine Verstellung der Membran- bzw. Nadelventile. Die Temperatur des Strömungswiderstandes wurde während des ganzen Versuches auf 20,0 ± 0,2° C konstant gehalten.

Die pro Zeiteinheit bei konstanter Druckdifferenz am Glaspulverwiderstand austretende Gasmenge wird für die im Rahmen der Mikroelementaranalyse interessierenden Anwendungen nicht signifikant vom Strömungswiderstand des angeschlossenen Systems beeinflußt.

Infolge der Abhängigkeit des Druckabfalles von der Viskosität und somit auch der Temperatur des untersuchten Gases sollte der Strömungswiderstand für sehr genaue Messungen thermostatiert werden.

Die Arbeit wurde aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes (Forschungsprojekt Nr. 591) finanziert, wofür wir an dieser Stelle bestens danken.

Herrn Dr. *E. Kováts*, E. T. H. Zürich, danken wir für die Überlassung der verwendeten Glaskugeln.

Der Strömungsmesser wurde von der Firma Gebr. Möller, Glasbläserei, Zürich, hergestellt.

Zusammenfassung

Es wird ein Strömungsmesser für kleine Gasströmungsgeschwindigkeiten beschrieben, der sich für eine Anwendung im Zusammenhang mit den in der Mikroelementaranalyse üblichen Verbrennungsapparaturen eignet.

Summary

A flowmeter for small gas flow rates to be used in connection with microanalytical combustion trains is described.

Résumé

Description d'un débitmètre pour courants gazeux de faibles vitesses susceptible d'être employé avec les appareils habituels utilisés en microanalyse élémentaire.

Literatur

[1] *A. Guyer, E. Graf* und *A. Guyer* jr., Helv. Chim. Acta **38**, 473 (1955).

[2] *E. Graf*, Diss. ETH, Zürich 1955.

[3] *E. Heilbronner, E. Kováts* und *W. Simon*, Helv. Chim. Acta **40**, 2410 (1957).

[4] *E. Kováts*, Helv. Chim. Acta **41**, 1915 (1958).

[5] *A. T. James* und *A. J. P. Martin*, Biochem. J. **50**, 679 (1952).

[6] *A. I. M. Keulemans*, Gas Chromatography. New York: 1957. S. 132.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der L. Eötvös-Universität, Budapest

Grenzen der Konzentrationsmessung eines Hochfrequenz-titrimeters mit einer Frequenz von etwa 130 MHz

Von

E. Pungor und L. Balázs

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 4. Juli 1959)

Eine der Indikationsmethoden der Hochfrequenztitration beruht auf der Messung von Veränderungen der scheinbaren Kreisgüte bei belastetem Oszillator[1]. Das von uns verwendete Hochfrequenztitrimeter[2] mißt die

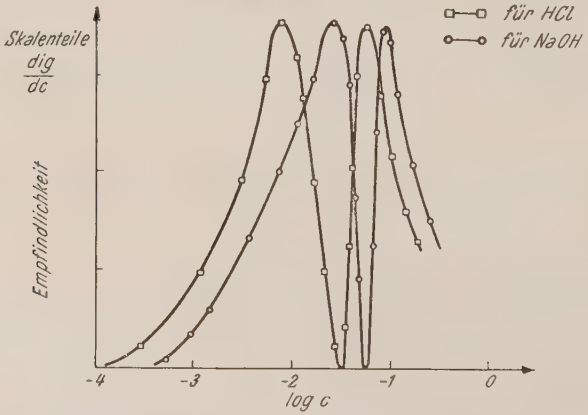


Abb. 1. Meßempfindlichkeit von Säure und Base in Abhängigkeit von der Konzentration

Veränderungen der scheinbaren Kreisgüte mit Hilfe des Gitterstroms der Elektronenröhre im Schwingungskreis und damit die Abhängigkeit des reellen Gliedes der Wechselstromleitfähigkeit. Zwischen dem Gleichstromwiderstand (R) und dem reellen Glied der Wechselstromleitfähigkeit (G_r) besteht ein Zusammenhang, der extreme Werte zeigt:

$$G_r = \frac{\omega^2 R c_1^2}{1 + \omega^2 R^2 (C + c_1)^2}.$$

Die Empfindlichkeit der Meßvorrichtung hängt von der Konzentration der Lösung bei kapazitiver Kopplung in der aus Abb. 1 ersichtlichen Weise ab. Hieraus ergibt sich, daß sowohl im vorliegenden Frequenzbereich als auch sonst bei allen Frequenzen Konzentrationswerte feststellbar sind, bei denen die Empfindlichkeit der Messung maximal ist; umgekehrt lassen sich in den unteren und oberen Abschnitten des Konzentrationsspektrums bei allen Frequenzen Grenzkonzentrationen feststellen, bei denen die Durchführung von Bestimmungen nicht mehr möglich ist. Nach Abb. 1 gibt es, ebenfalls von der Frequenz abhängig, auch bei mittleren Konzentrationen einen für die Titration zu unempfindlichen Bereich.

Dieser Umstand war der Grund, in vorliegender Arbeit bei einigen wichtigeren analytischen Reaktionen nachzuweisen, welche unteren Konzentrationsgrenzen es sind, bei denen das durch uns verwendete Hochfrequenztitrimeter analytisch noch annehmbare Ergebnisse liefert. Die noch höher gelegene unempfindliche Konzentrationszone kommt für analytische Untersuchungen nicht in Frage, da sie in das Gebiet 10-normaler Lösungen fällt.

Praktischer Teil

Abb. 2 zeigt das von uns verwendete Hochfrequenztitrimeter. Der Oszillator ist mit der zu titrierenden Lösung auf kapazitivem Wege

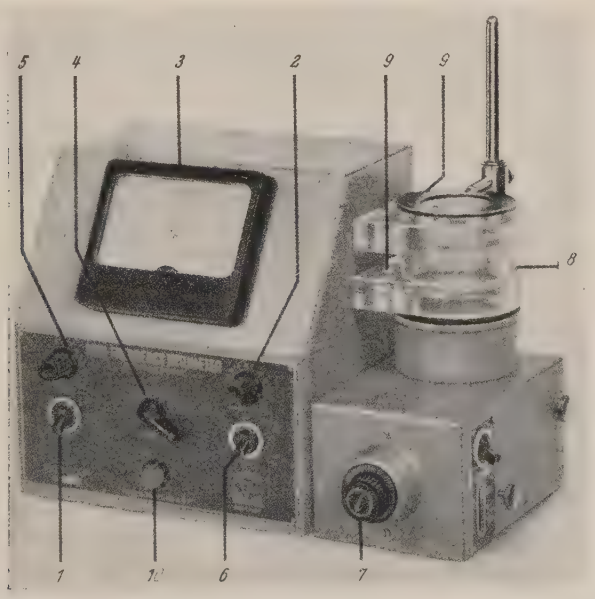


Abb. 2. *1* Hauptschalter, *2* Justierung, *3* Galvanometer, *4* Empfindlichkeitsregler, *5* Kompensation, *6* Motorschalter, *7* Drehzahlschalter, *8* Elektrodenhalteraufsatz, *9* Schrauben, *10* Signallampe

gekoppelt; die Elektroden sind auswechselbar. Im Interesse einer festeren Kopplung wird bei Messungen von Lösungen sehr niedriger Konzentration so verfahren, daß man ein in die Haltevorrichtungen genau passendes Becherglas benutzt; die Oberflächen der beiden Kupferelektroden überragen die Innenfläche der Plexiglasfassung und liegen dem Becherglas streng an. Dies kann dadurch erreicht werden, daß man auf die Elektroden je eine ihre Oberfläche berührende Kupferplatte derselben Breite legt. Wenn die Länge der Kupferplatten dem Kreisumfang gleich ist, bleiben sie auch ohne besondere Befestigung an ihrer Stelle.

Das Becherglas wird, einesteils um es zu fixieren, andrenteils um die Hochfrequenzstreuenergie zu erden, mit einer Metallplatte eingespannt, die in leitender Verbindung mit der Erdung des Instruments steht. Diese Vorkehrung ermöglicht es, während der Manipulation mit der Bürette die Hand dem oberen Teil der Meßzelle nähern zu können, ohne Gefahr zu laufen, daß der Schwingkreis dabei Belastungsänderungen erfährt und sich so der Wert des Gitterstromes ändern würde.

Bei den Untersuchungen wurden p. a.-Chemikalien verwendet; die Titration wurde mit einer Mikrobürette durchgeführt.

Das Ausgangsvolumen der zu titrierenden Lösung betrug in jedem Falle 150 ml. Auf den Tabellen ist auch angegeben, welche Mengen der zu bestimmenden Komponenten pro Milliliter der zur Titration verwendeten Lösung enthalten sind.

Experimentelle Ergebnisse

Die Ergebnisse sind nach der Art der analytischen Verfahren zusammengefaßt; demgemäß werden also die Säure-Basen-Reaktionen und die Fällungsreaktionen gesondert behandelt. Da die komplexometrischen Titrationen bei niedrigen Konzentrationen nach unseren bisherigen Ergebnissen noch zahlreiche offene Probleme bieten, soll auf deren untere Konzentrationsgrenzen hier nicht eingegangen werden.

Säure-Basen-Reaktionen

Bei den Titrationen dieser Art wurden die Säuren alkalimetrisch gemessen. Da die Titrationskurven und daher auch die Möglichkeiten der Auswertung der Titration von Basen denen von Säuren annähernd analog sind, werden acidimetrische Messungen hier nicht behandelt.

Die Titration der schwachen und der starken Säuren wird getrennt besprochen. Während es im letzteren Falle für die Auswertung der Kurven gleichgültig ist, ob die Titration mit starken oder schwachen Basen durchgeführt wird, können schwache Säuren zweckmäßig nur mit schwachen Basen titriert werden. Auch an dieser Stelle sei betont, daß wir für analytische Zwecke nur solche Hochfrequenztitrationskurven

für geeignet erachten, bei denen die Richtungstangente im Endpunkt der Titration eine ausgeprägte Verlaufsänderung zeigt. Unserer Meinung nach ist anzustreben, daß die Richtungstangente im Endpunkt wenn möglich auch ihr Vorzeichen ändert. Gelingt es, dieser Bedingung zu genügen, so ist eine weitgehende Verläßlichkeit der Ergebnisse gewährleistet.

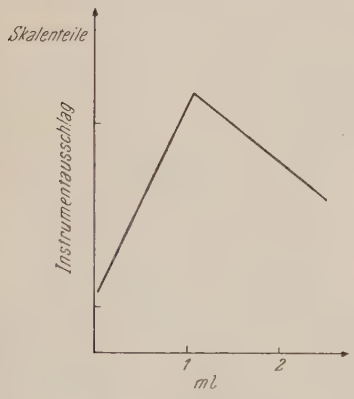


Abb. 3. Titrationskurve für Salzsäure mittels 0,01-n Natronlauge

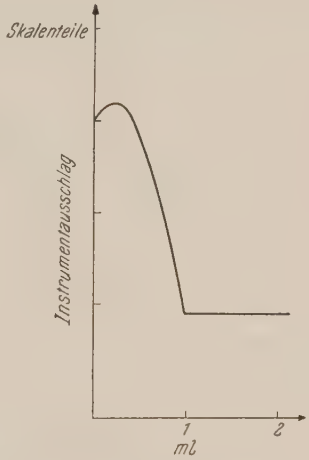


Abb. 4. Titrationskurve für Essigsäure mittels 0,1-n Ammoniumhydroxyds

Die Salzsäure wurde mit 0,01-n Natronlauge titriert. Abb. 3 zeigt die Titrationskurve, die Meßergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Salzsäure bis zu einer Konzentration von etwa 1 μg/ml titriert werden kann. In der Umgebung des Äquivalenzpunktes verlaufen die Kurven linear, die Bestimmung kann daher durchgeführt werden, indem man aus je zwei Meßpunkten vor und nach dem Äquivalenzpunkt diesen graphisch ermittelt. In der Umgebung des Endpunktes wurden die Titrationen im allgemeinen durch Zugabe von je 0,25 ml Reagens durchgeführt.

Als Modellsubstanz einer schwachen Säure wählten wir die Essigsäure, weil deren Bestimmung in der Praxis von Interesse ist. Die Titration wurde mit 0,1-n Ammoniumhydroxydlösung durchgeführt, die Titrationskurve bei diesen niedrigen Konzentrationen zeigt Abb. 4, die Meßergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich. Abweichend von den Verhältnissen bei höheren Essigsäurekonzentrationen zeigt die Titrationskurve im Anfangsstadium der Salzbildung ein Maximum. Die theoretischen Fragen bezüglich dieses Maximums sollen an anderer Stelle behandelt werden, hier möchten wir nur bemerken, daß als Folge dieses Umstandes die untere Konzentrationsgrenze der Bestimmung bedeutend höher liegt als dies bei der Salzsäure der Fall ist. Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, liegt die untere Grenze der Bestimmung bei etwa 20 μg/ml. Auf dem

ersten Abschnitt der Kurve müssen, abweichend von dem bei der Bestimmung starker Säuren Gesagten, mehrere Meßpunkte ermittelt werden. Die Ausschläge des Instruments wurden bei den Untersuchungen im allgemeinen nach Zugabe von je 0,1 ml Ammoniaklösung abgelesen. Nach dem Äquivalenzpunkt, im Gebiet des Ammoniaküberschusses, verläuft die Kurve horizontal. Dieser Umstand erhöht die Sicherheit der Endpunktbestimmung sehr erheblich.

Tabelle 1. Salzsäurebestimmung

Salzsäuregehalt μg/ml	Verbrauch an 0,01-n NaOH in ml		Δ ml
	theoretisch	praktisch	
5	2,005	2,05	+ 0,045
		2,05	+ 0,045
2,5	1,009	1,02	+ 0,011
		1,07	+ 0,061
1,2	0,494	0,50	+ 0,006
		0,44	— 0,054

Tabelle 2. Essigsäurebestimmung

Essigsäuregehalt μg/ml	Verbrauch an 0,1-n NH_4OH in ml		Δ ml
	theoretisch	praktisch	
41	1,004	1,00	— 0,004
		1,00	— 0,004
20	0,492	0,54	+ 0,048
		0,55	+ 0,058

Fällungsreaktionen

Von diesen wurde die Titration des Chlorids und Sulfats einer eingehenderen Untersuchung unterzogen.

Das Chlorid wurde mit 0,1- und 0,05-n Silbernitrat titriert. Die Titrationskurve besteht, wie Abb. 5 zeigt, im Gebiete so niedriger Konzentrationen aus zwei geraden Abschnitten. Das Instrument zeigt bis zum Äquivalenzpunkt praktisch keine Abweichung vom Anfangswert. Erst nach Überschreiten des Äquivalenzpunktes nimmt die Leitfähigkeit zu und das Instrument schlägt demgemäß in Richtung der niedrigeren Werte aus. Die Beweglichkeiten der Chlorid- und Nitrationen sind nicht gleich, dementsprechend zeigt der Kurvenabschnitt vor dem Äquivalenzpunkt bei Lösungen mit höherer Ausgangskonzentration einen schwachen Anstieg; bei den in vorliegender Arbeit angewandten Konzentrationen ist dieser Anstieg jedoch nicht wahrnehmbar, die Kurve scheint horizontal zu verlaufen. Die Ergebnisse der Bestimmung sind in Tabelle 3 zusammen-

gefaßt. Aus den Werten ist ersichtlich, daß die untere Grenze der Chloridbestimmung bei etwa 2 μg/ml liegt.

Tabelle 3. Chloridbestimmung

	Chloridgehalt μg/ml	Verbrauch an Maßlösung in ml		Δ ml
		theoretisch	praktisch	
0,1-n $AgNO_3$-Lösung	24	1,047	1,05	+ 0,003
			1,05	+ 0,003
	5	0,209	0,20	— 0,009
			0,20	— 0,009
0,05-n $AgNO_3$-Lösung	4,8	0,406	0,42	+ 0,014
			0,42	+ 0,014
	2,4	0,200	0,20	—

Die Bestimmung des Sulfats mit Bariumsalzen stellt eine schwierigere Aufgabe dar als die des Chlorids. Die Ausscheidung des Bariumsulfats ist wegen der geringen Geschwindigkeit der Keimbildung von Bariumsulfat eine merkbare Zeitreaktion. Besonders langsam verläuft die Bildung der Kristallkeime, wenn die Lösung auch irgendein anderes Salz in höherer Konzentration enthält. In solchen Fällen scheidet sich, besonders bei niedrigen Sulfatkonzentrationen während der zur Durchführung der Titration im allgemeinen noch tragbaren Zeit überhaupt kein Niederschlag ab, mit einer Veränderung der Leitfähigkeit kann daher ebenfalls nicht gerechnet werden.

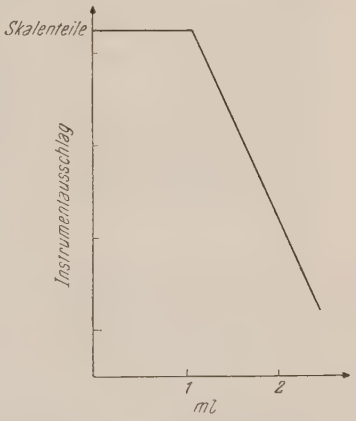


Abb. 5. Titrationskurve für Chlorid mittels 0,1-n Silbernitrats

Eine zweite, sehr wichtige Frage bezüglich gut auswertbarer Titrationskurven ist die entsprechende Wahl der Anionen des Bariumsalzes[3]. Die Verwendung von Chlorid ist nicht günstig, da seine Leitfähigkeit bedeutend höher ist als die des Sulfats, dessen Stelle es ja im Verlaufe der Titration einnimmt. Selbst wenn die erwähnte Schwierigkeit der Keimbildung überwunden werden kann, wird keine gut auswertbare Titrationskurve erhalten, da die Kurve schon vor dem Äquivalenzpunkt sinkt und die Änderung der Richtungstangente im Äquivalenzpunkt daher nicht genügend ausgeprägt ist, um eine sichere Auswertung zu gewährleisten.

Außerdem muß auch mit dem durch die Löslichkeit dieses Bariumsulfats verursachten Fehler gerechnet werden.

Die mit der Niederschlagsbildung und der Löslichkeit des Niederschlags zusammenhängenden Schwierigkeiten konnten dadurch überwunden werden, daß der Lösung Alkohol und zur Begünstigung der Keimbildung Bariumsulfat zugegeben wurde. Das Bariumsulfat wird für jede Versuchsserie aus reiner Schwefelsäure separat hergestellt, filtriert, zur Entfernung der löslichen Reagenzien gewaschen und getrocknet. Bei jeder Untersuchung wurden zirka 0,5 g Bariumsulfat in die Lösung eingebracht. Die Menge des Alkohols wurde so abgestimmt, daß das Gesamtvolumen etwa 33% Äthylalkohol enthält.

Abb. 6. Titrationskurve für Sulfat mittels 0,1-n Bariumacetats

Das die Keimwirkung begünstigende Bariumsulfat und der Alkohol ermöglichen eine erhebliche Steigerung der Geschwindigkeit der Titration. Während sich die Titration ohne Verwendung dieser Zutaten eventuell auch über 1 Stunde ausdehnen oder bei sehr niedrigen Sulfatkonzentrationen überhaupt nicht durchgeführt werden kann, beansprucht eine Titration bei Anwendung von Alkohol und Bariumsulfat nur etwa 15 Minuten.

In neutralem oder schwach essigsaurem Medium verwendeten wir Bariumacetat als Titrierflüssigkeit. Dabei wurde die auf Abb. 6 gezeigte Titrationskurve erhalten, bei der die Richtungstangente im Äquivalenzpunkt auch ihr Vorzeichen ändert. Auf diese Weise können Sulfatkonzentrationen von etwa 10 bis 15 μg/ml noch gemessen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Diese zeigt auch die Ergebnisse der Messungen in essigsaurem Medium.

In stark sauren Lösungen ist Bariumacetat zur Sulfatbestimmung nicht geeignet, da in diesem Falle nach Abscheidung des Sulfats auch die Säure-Basen-Titrationskurve des alkalisch hydrolysierenden Bariumacetats auftritt. Soll eine saure Lösung untersucht werden, neutralisieren wir vorerst gegen Methylrot und titrieren dann die so erhaltene Lösung mit Bariumacetat.

Obige Ergebnisse wurden in praktischer Anwendung zur Feststellung einiger charakteristischer Daten des Budapester Trinkwassers verwertet. Die Daten der auch Parallelmessungen beinhaltenden Untersuchungen sind in Tabelle 5 zusammengefaßt. Außer den mit Hilfe der Hochfrequenztitration erhaltenen Daten zeigt die Tabelle auch die nach den Standardmethoden für die Wasseranalyse erhaltenen Ergebnisse.

Tabelle 4. Sulfatbestimmung

Sulfatgehalt µg/ml	Verbrauch an 0,1-n $Ba(CH_3COO)_2$ in ml		Δ ml
	theoretisch	praktisch	
	In neutraler Lösung		
32	1,019	1,01	— 0,009
		1,03	+ 0,011
16	0,499	0,51	+ 0,011
		0,52	+ 0,021
	In essigsaurer Lösung		
32	1,019	1,00	— 0,019
		0,95	— 0,069
16	0,499	0,48	— 0,019
		0,50	+ 0,001

Tabelle 5. Die Bestimmung von Chlorid und Sulfat in Wasser

a) Chloridbestimmung in 100 ml Leitungswasser

nach *MNOSz* (ungarische Normvorschrift)	mittels der Hochfrequenz-titrationsmethode		Δ µg
Chloridgehalt µg/ml	Verbrauch ml 0,1-n $AgNO_3$	Chloridgehalt µg/ml	
13,7	0,38	13,5	— 0,2
	0,41	14,5	+ 0,8
	0,38	13,5	— 0,2

b) Sulfatbestimmung in 100 ml Donauwasser

nach *MNOSz* (ungarische Normvorschrift)	mittels der Hochfrequenz-titrationsmethode		Δ µg
Sulfatgehalt µg/ml	Verbrauch ml 0,1-n $AgNO_3$	Sulfatgehalt µg/ml	
27,5	0,58	28,4	+ 0,9
	0,54	26,5	— 1,0
	0,58	28,4	+ 0,9

Zusammenfassung

Die unteren Konzentrationsgrenzen der Durchführbarkeit von Säure-, Basen- und Fällungstitrationen mit dem bei 130 MHz arbeitenden Hochfrequenztitrimeter wurden untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß die untere Grenze der Bestimmungsmöglichkeit bei Salzsäure 1, bei Essig-

säure 20, bei Chlorid 2 und bei Sulfat 10 μg/ml beträgt. Bezüglich der Wahl der Titrierflüssigkeit halten wir die Anwendung solcher Reagenzien für wichtig, bei denen die Richtungstangente im Äquivalenzpunkt möglichst ihr Vorzeichen ändert.

Summary

A study was made of the lower concentration limits at which it is possible to conduct acid-base and precipitation titrations with the high-frequency titrimeter operating at 130 MHz. It was found that the lower limit of the possibility of determining hydrochloric acid is 1 μg/ml, of acetic acid 20, of chloride 2, and sulfate 10. With respect to the choice of the titrant, the writers believe it important to use such reagents with which the direction tangent show the maximum change in indication at the equivalent point.

Résumé

Les auteurs ont cherché à déterminer les limites inférieures de concentration pour lesquelles les titrages acide-base et les titrages par précipitation restaient possible avec un titrimètre haute fréquence travaillant à 130 MHz. Ils ont établi que ces limites inférieures étaient de 1 μg/ml pour l'acide chlorhydrique de 20 μg/ml pour l'acide acétique de 2 μg/ml pour les chlorures et de 10 μg/ml pour les sulfates. En ce qui concerne les liquides titrants ils considèrent que ces réactifs ne sont intéressants que lorsque au voisinage du point équivalent la direction de la tangente change de signe aussi nettement que possible.

Literatur

[1] *K. Cruse* und *R. Huber*, Hochfrequenztitration. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie. 1957.

[2] *E. Pungor*, Z. analyt. Chem. **154**, 1 (1957).

[3] *O. I. Milner*, Analyt. Chemistry **24**, 1247 (1952).

Aus dem Max Planck-Institut für Eisenforschung, Düsseldorf

Beiträge zur Mikroelementaranalyse*

Von

Hanns Malissa**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 14. Juli 1959)

Einleitung

Die Mikroelementaranalyse leidet trotz vielfacher Bemühungen noch immer unter dem Mangel einer wirklichen Schnellmethode, wie solche z. B. in der Eisenindustrie zur Kohlenstoff- und Schwefelbestimmung seit Jahrzehnten üblich sind. Wenn auch die Zweckmäßigkeit der oft und oft im Interesse größerer Genauigkeit und Sicherheit unternommenen Versuche zur Modifikation der klassischen Methodik generell nicht bestritten und die Notwendigkeit nicht außer Acht gelassen wird, in der Praxis die bisher bewährten Verfahren so lange beizubehalten, bis wirklich Vorteilhafteres sicher erprobt ist, werden wesentliche Fortschritte wohl doch nur durch radikale Abwendung von den bisher üblichen Methoden und durch eine neue Zielsetzung der Forschung zu erreichen sein.

Ohne Zweifel ist bei der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung das Wägen der Absorptionsgefäße eine wesentliche Belastung der bisher üblichen Verbrennungsmethoden. Das Anpassen der Röhrchen an das Wägeklima ist zeitraubend und aus der Diskrepanz zwischen deren Gewicht und dem Gewicht der absorbierten Gasmenge (meist ein Verhältnis von 1 : 5000 bzw. 1 : 10000) ergeben sich große Fehlermöglichkeiten. Der eigentliche Verbrennungsvorgang benötigt selten mehr als 10 Minuten, also ein Sechstel bis ein Viertel der Gesamtanalysenzeit. Der Hauptteil der übrigen Zeit geht für die Austreibung der Verbrennungsprodukte und für die Konstantwägung der Absorptionsröhrchen verloren.

* Nach einem am 22. Mai 1959 im Rahmen der Österreichischen Gesellschaft für Mikrochemie in Graz gehaltenen Vortrag.

** Neue Anschrift: Institut für analytische Chemie der Technischen Hochschule Wien, Wien VI, Getreidemarkt 9.

Hier muß also vor allem Wandel geschaffen werden, wenn eine Zeitverkürzung erreicht werden soll.

Bereits *Lindner*[1,2] befaßte sich intensiv mit der Möglichkeit der maßanalytischen Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff, wobei das Kohlendioxyd in Barytlauge aufgefangen und das Wasser mit Naphthyloxychlorphosphin umgesetzt und als Halogenwasserstoff erfaßt wurden. Allerdings war dadurch nur der Wägevorgang ausgeschaltet, ohne die Dauer der Analyse wesentlich zu verkürzen. Auch die Bemühungen von *van Nieuwenburg*[3] sowie von *Belcher* und Mitarbeitern[4] um geeignete Reaktionsmittel für die Umsetzung des Wassers bleiben hinsichtlich der Zeitersparnis weit hinter den zu stellenden Forderungen zurück.

Eine Änderung der Arbeitsweise in der Mikroelementaranalyse brachte die Einführung des „leeren" Rohres durch *Belcher* und *Ingram*[5], wobei die Probe in einem raschen Gasstrom bei etwa 900° C verbrannt wird. Nach *Ingram*[6] ermöglicht diese Arbeitsweise die Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in 25 Minuten.

Unterzaucher[7] hat in Weiterentwicklung seiner Sauerstoffbestimmungsmethode auch ein maßanalytisches Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungsverfahren bekanntgegeben, wobei sowohl das bei der Verbrennung erzeugte Kohlendioxyd als auch das Wasser nach Reduktion mit Kohle als Kohlenmonoxyd jodometrisch bestimmt werden. Beim maßanalytischen Verfahren nach *Johannson*[8] wird zur C-H-Bestimmung folgender Weg eingeschlagen: Die Verbrennung findet im leeren Rohr bei etwa 900° C statt, wobei aus dem Kohlenstoff Kohlendioxyd gebildet wird, das zu Bariumcarbonat umgesetzt und abfiltriert wird. Dieses wird in das entsprechende Jodat übergeführt und jodometrisch bestimmt. Auf diese Weise erhält man je Kohlenstoffatom 12 Jodatome. Das Wasser wird in einer Mischung von Methanol und Pyridin aufgefangen und nach *Fischer* titriert. Ein wesentlicher Zeitgewinn kann mit dieser Arbeitsweise nicht erzielt werden, da der bestimmende Faktor die Kohlenstoffbestimmung ist. Weiters sei auch auf die manometrischen C-H-Bestimmungsmethoden hingewiesen, wobei die Analyse durch Ausfrieren und Wiederauftauen von Wasser und Kohlendioxyd bei Abwesenheit von Stickstoff in 16 Minuten durchführbar ist[9]. In die gleiche Gruppe gehört die von *van Slyke* und *Folch*[10] ausgearbeitete manometrische Methode, wobei aber in etwa 20 Minuten leider nur der Kohlenstoffgehalt ermittelt werden kann. *Schöniger*[11] beschreibt eine manometrische C-, H- und N-Bestimmungsmethode, die die Forderung nach Fortfall vieler Wägevorgänge bereits erfüllt. Die organische Substanz wird in einem geschlossenen, auf mindestens 10^{-2} mm Hg evakuierten System nach Vermischen mit Kupferoxyd zu CO_2, H_2O und N_2 verbrannt. Die beiden ersten Produkte werden fraktioniert ausgefroren, so daß der verbleibende

Restdruck dem Stickstoffgehalt der Substanz entspricht. Nach dem Abpumpen des Stickstoffs und Auftauen des Kohlendioxyds wird dessen Dampfdruck und anschließend der Wasserdampfdruck gemessen. Aus den einzelnen Drucken ergibt sich der Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff.

Seitdem *Cain* und *Maxwell*[12] die durch Einleiten von Kohlendioxyd in Alkalilauge verursachte Leitfähigkeitsänderung zur Kohlenstoffbestimmung herangezogen haben, wurde auch dieser Reaktionsmechanismus — wenn auch bei weitem nicht so sehr wie die gravimetrische Arbeitsweise — in Betracht gezogen. Erst seit 1950 rückte die Leitfähigkeitsmessung mehr in den Vordergrund, wozu vor allen Dingen Arbeiten von Seiten der Eisenhüttenchemie[13–16] beigetragen haben. Es ist sicher richtig, die Leitfähigkeit zur Indikation heranzuziehen, da sie praktisch ohne Verzögerung den Eintritt der chemischen Reaktion zwischen Verbrennungsgasen und Absorptionslösungen anzeigt und nach dem heutigen Stand der Meßtechnik sehr leicht automatisch registriert werden kann.

Zur Ausarbeitung einer raschen und genauen Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Schwefelbestimmung müssen etwa folgende Voraussetzungen geschaffen werden:

1. Sichere und rasche Verbrennung der Substanz unter Berücksichtigung der dabei eventuell entstehenden Spalt- und Nebenprodukte.
2. Ausschaltung aller Wägevorgänge mit Ausnahme der Einwaage.
3. Bildung konduktometrisch bestimmbarer, spezifischer Verbrennungsprodukte.
4. Schaffung einer hierzu geeigneten Apparatur.

Verbrennung

Die Verbrennung einfacher, organischer Substanzen im hochgereinigten Sauerstoff bringt je nach Temperatur eine mehr oder minder große Anzahl gasförmiger Produkte, wie z. B. CO_2, SO_2, SO_3, N, NO usw. Diese sind mehr oder weniger thermisch dissoziiert; ihre Dissoziation ist außer von Druck und Temperatur auch davon abhängig, ob Katalysatoren vorhanden sind, das heißt also, ob im „gefüllten" oder „leeren" Rohr verbrannt wird. Leider fehlen für die C-H-Bestimmung bzw. für die S-Bestimmung noch eingehende Untersuchungen in dieser Richtung, wie sie z. B. für die Stickstoffbestimmung nach Dumas von *Sheau-Shya Kao* und *Woodland*[17] durchgeführt wurden. Aus den in Tabelle 1 angeführten Gleichgewichtskonstanten für die thermische Dissoziation der Oxydationsprodukte, die aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Schwefel enthaltenden Substanzen bei Verbrennung im leeren Rohr gebildet werden, ergibt sich die Möglichkeit, 1200° C als Arbeitstemperatur zu wählen.

Tabelle 1

°C	Thermische Dissoziationskonstanten		
	$CO_2 \rightleftharpoons CO + {}^1/_2 O_2$	$SO_2 \rightleftharpoons {}^1/_2 S_2 + O_2$	$H_2O \rightleftharpoons H_2 + {}^1/_2 O_2$
727	$6{,}31 \cdot 10^{-11}$	$7{,}24 \cdot 10^{-16}$	$8{,}72 \cdot 10^{-11}$
927	$1{,}81 \cdot 10^{-8}$	$1{,}12 \cdot 10^{-12}$	$1{,}27 \cdot 10^{-8}$
1127	$1{,}02 \cdot 10^{-6}$	$1{,}99 \cdot 10^{-10}$	$4{,}53 \cdot 10^{-7}$
1227	$5{,}08 \cdot 10^{-6}$		$1{,}90 \cdot 10^{-6}$
1527		$2{,}04 \cdot 10^{-7}$	

Bei etwa 1200° C spielt die thermische Dissoziation von Kohlendioxyd, Schwefeldioxyd und Wasser praktisch noch keine Rolle, denn bei 1300° C sind von diesen drei Verbindungen nur je einige hundertstel Prozent zerfallen. Der Zerfall von SO_3 beginnt jedoch bereits bei 400° C und ist bei etwa 800° C fast vollständig. Der Einfluß der Temperatur auf die Analysengenauigkeit wird jedoch im Bereich von 1000 bis 1400° C weiterhin eingehend zu studieren sein, wobei berücksichtigt werden sollte, daß die Verbrennung einer organischen Substanz im reinen Sauerstoffstrom sehr rasch vor sich geht und daß für eine einwandfreie Oxydation gesorgt werden muß. Von diesem Gesichtspunkt aus ergibt sich unter anderem die Zweckmäßigkeit möglichst kleiner Einwaagen.

Absorption und Leitfähigkeitsänderung

Die Absorption gasförmiger Reaktionsprodukte in Elektrolyten und die damit verbundene Leitfähigkeitsänderung ist eine Funktion der Natur des Elektrolyten, des Lösungsmittels, der Temperatur und der Konzentration. Dabei spielen vorwiegend die spezifische Leitfähigkeit, die Temperaturbeziehung und die Äquivalentleitfähigkeit eine große Rolle.

Verläuft die chemische Umsetzung zwischen absorbierter Komponente und Elektrolyt rasch und vollständig, so ist die Leitfähigkeitsmessung, da sie einfach durchgeführt werden kann, die geeignetste Meßmethode.

a) Die Absorption von Kohlendioxyd

Bekanntlich nehmen viele Alkali- und Erdalkalihydroxyde Kohlendioxyd begierig unter Carbonat- und Wasserbildung auf. Allerdings scheint diese Absorption nie quantitativ zu verlaufen, wie *Still* und Mitarbeiter[13] in Übereinstimmung mit *Gardner*[18] berichten, dem es auch unter günstigsten Bedingungen nicht gelang, mehr als 98% CO_2 zu absorbieren. Durch Anwendung eines genau und konstant arbeitenden Pumpensystems in Verbindung mit geeigneten Meßzellen ist es aber möglich, in der Zeiteinheit stets gleiche Gasvolumina durch die Meßzelle zu bringen und dadurch den erwähnten Nachteil auszuschalten. *Schmidts* und *Baasch*[19] haben ein solches System geschaffen und damit die Voraus-

setzung geboten, um die Kohlenstoff- und Schwefelbestimmung in Grubengasen sowie in Eisenwerkstoffen, aber auch in der Mikroelementaranalyse einschließlich der direkten Sauerstoffbestimmung auf eine neue Basis zu stellen.

Der Leitfähigkeitsänderung einer Natronlauge durch Absorption von Kohlendioxyd liegt folgende Reaktion zugrunde:

$$2\ OH^- + CO_2 = CO_3^{2-} + H_2O.$$

Die Summe der Äquivalentleitfähigkeiten vor der Umsetzung beträgt 348 $\Omega^{-1} \cdot cm^2$, die Summe nach der Umsetzung beträgt 121 $\Omega^{-1} \cdot cm^2$. Daraus ergibt sich eine Verminderung der Äquivalentleitfähigkeiten um 227 $\Omega^{-1} \cdot cm^2$. Auch wenn die Reaktion nicht nur nach der obigen Gleichung verlaufen, sondern nebenbei auch Hydrogencarbonat gebildet werden sollte, so tritt dennoch in allen basischen Absorptionslösungen eine wenn auch geringere Verminderung der Leitfähigkeit ein, weil es zum Verschwinden von Hydroxylionen kommt, die nach den Wasserstoffionen die größte Äquivalentleitfähigkeit haben. Die oftmals vorgeschlagene und auch verwendete Barytlauge ist für konduktometrische Zwecke wegen der Bildung des schwerlöslichen Bariumcarbonats keine bessere Absorptionslösung, da sich der Niederschlag sehr leicht an den Elektroden absetzt und so zu Potentialstörungen führt, die durch häufiges Reinigen beseitigt werden müssen. Hingegen hat sich die auch von *Koch* und *Malissa*[14] vorgeschlagene 0,005-n Natronlauge als durchaus geeignet erwiesen[20].

b) Die Absorption von Wasser

Für die Bestimmung des Wassers bzw. des zu Wasser verbrannten Wasserstoffs wird nicht die Absorption in einer Lösung herangezogen, sondern es wird versucht, eine chemische Umsetzung heranzuziehen, die zu einem absorbierbaren Gas und mit dessen Hilfe zu einer Leitfähigkeitsänderung führt. Selbstverständlich ist es grundsätzlich möglich, das Wasser direkt zu absorbieren. In konz. Schwefelsäure verändert sich z. B., soweit es sich um geringe Wassermengen handelt, die Leitfähigkeit direkt proportional mit der Wasseraufnahme. Das Arbeiten mit konz. Schwefelsäure ist aber sehr unbequem.

Lindner[1] hat den Reaktionen zwischen Wasser und halogenabspaltenden Reagenzien im Laufe von mehr als 10 Jahren große Aufmerksamkeit geschenkt, ohne dabei zu einer wirklich raschen Umsetzung zu gelangen. Zwar konnte die Wägung der Absorptionsröhrchen umgangen werden, aber ohne damit einen Zeitgewinn zu erzielen, da die Umsetzungsgeschwindigkeiten sehr gering sind.

In *Tabelle 2* sind einige Erfahrungen zusammengefaßt, die *Lindner*[2], *Belcher* und Mitarbeiter[4] und wir gewonnen haben.

Außer den in Tabelle 2 angeführten bieten sich noch eine Reihe anderer Reagenzien an, die noch in Erprobung sind. Bezüglich der Nitride sei vermerkt, daß nur Lithiumnitrid und Magnesiumnitrid von kaltem Wasser zersetzt werden, die Erdalkalinitride durch heißes Wasser und Bor- bzw. Aluminiumnitride im Dampfstrom. Azide reagieren wahrscheinlich zu heftig, mit Amiden liegen noch keine Erfahrungen vor. Bei der Auswahl der für die Umsetzung mit Wasser geeigneten Reagenzien muß auch daran gedacht werden, Nebenreaktionen tunlichst zu vermeiden. Günstig scheint immer die Erzeugung eines leicht verbrennbaren Gases, z. B. Methan, Äthan oder Acetylen. Calciumcarbid und selbstverständlich auch andere Carbide, die sich sofort mit Wasser umsetzen, kommen in erster Linie dafür in Betracht. Allerdings ist das Calciumcarbid des Handels ein relativ unreines Produkt, die Verunreinigungen stören aber nach Behandlung des gasförmigen Reaktionsproduktes mit einem Austauscher nicht. Aluminiumcarbid bildet mit Wasser Methan, dessen Verbrennung pro Mol Wasser $^1/_2$ Mol Kohlendioxyd liefert. Diese Umsetzung ist also ungünstiger als die mit Calciumcarbid, das über Acetylen zur Bildung von 1 Mol Kohlendioxyd pro Mol Wasser führt.

Tabelle 2. Erfahrungen mit verschiedenen Reagenzien zur Umsetzung mit Wasser

Reagens	gemessenes Reaktionsprodukt	Bemerkungen
PCl_5, PBr_5[2]	HCl bzw. HBr	zu flüchtig
$AlBr_3$, PBr_5[2]	HBr	Bildung von freiem Brom
$MgCl_2$[2]	HCl	keine quantitative Umsetzung
$AlCl_3 \cdot PCl_5$[2]	HCl	flüchtig, hoher Blindwert
$CrCl_3 \cdot PCl_5$[2]	HCl	explosiv, sublimiert zu stark
$SbCl_5 \cdot PCl_5$[2]	HCl	zu flüchtig
$TiCl_4$	HCl	langsame Reaktion, Ausscheidung von TiO_2
Äthyltrichlorsilan[4]	HCl	zu hoher Blindwert
n-Propyltrichlorsilan[4]	HCl	zu hoher Blindwert
Triphenylchlorsilan[4]	HCl	langsame Reaktion
p-Toluensulfonylchlorid[4]	HCl	instabil
Butyrylchlorid[4]	HCl	sehr flüchtig, hoher Blindwert
Trichloracetylchlorid[4]	HCl	sehr flüchtig, hoher Blindwert
Succinylchlorid[4]	HCl	scheint gut geeignet zu sein
Mg_2N	NH_3	empfindliche Anzeige, langsame Umsetzung
CaC_2	C_2H_2	rasche Umsetzung, gute Anzeige

Die Versuche mit Calciumcarbid wurden wie folgt durchgeführt: Über Natronkalk von Kohlendioxyd gereinigte, durch Schwefelsäure vorgetrocknete und durch Phosphorpentoxyd vom restlichen Wasser befreite

Luft wurde wahlweise in einer mit Wasser gefüllten Waschflasche auf 100% rel. Luftfeuchtigkeit gebracht oder direkt, das heißt unter Umgehung der Waschflasche und daher trocken, in ein Glasrohr gesaugt, das eine 2 cm lange Füllung von frisch gemahlenem Calciumcarbid mit Quarzwolle enthielt. Das gebildete Acetylen wurde in einem Mikro-

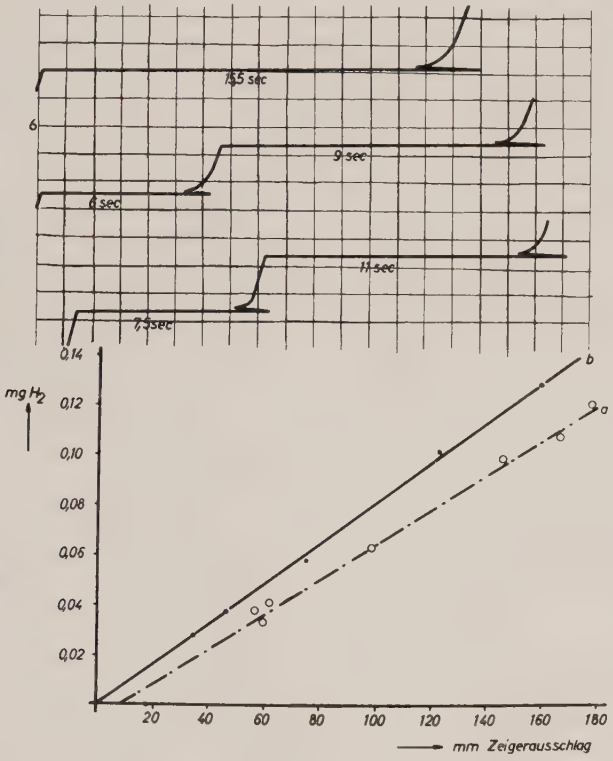


Abb. 1

verbrennungsofen, der mit Porzellanscherben als Kontaktmasse gefüllt war, bei 1000° C verbrannt. Das dabei entstandene Kohlendioxyd wurde wie bereits beschrieben[20] bestimmt. Die ersten Versuche zeigten eine sehr schnelle Umsetzung des Wassers mit dem Calciumcarbid; schon 5 Minuten nach dem Ende des Einleitens der feuchten Luft war der Blindwert wieder erreicht.

Nun wurde versucht, durch verschieden langes Einleiten feuchter Luft eine Eichkurve aufzustellen. Dabei wurden die in Tabelle 3 angeführten Werte erhalten. Soweit die durch die Ungenauigkeit der Zeitnahme bedingten Schwankungen der Meßergebnisse eine Aussage zulassen, verläuft die Kurve nahezu durch den Nullpunkt, wie die Abb. 1 (Kurve *a*) zeigt.

Tabelle 3. Umsetzung zwischen feuchter Luft und Calciumcarbid

Zeit sek	Temp. °C	mg H_2O	Stufenhöhe mm
7,5	18	0,395	62
11	18	0,575	99
6	18	0,316	60
9	19	0,500	108
15,5	20	0,916	147
6	21	0,375	56
17	21	1,06	173
16	21	1,00	166

Daher wurde anschließend eine Eichkurve mit Kupfersulfat aufgestellt: In $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ wurde durch 2stündiges Erhitzen auf 400° C der Wassergehalt gravimetrisch bestimmt und in Übereinstimmung mit dem stöchiometrischen Wert 36,10% Wasser gefunden. Von diesem Präparat wurden unterschiedliche Mengen in Mikroplatintiegel eingewogen und in den auf 400° C erhitzten Verbrennungsofen eingeschoben.

Tabelle 4. Umsetzung zwischen Kristallwasser aus Kupfersulfat und Calciumcarbid

mg H_2O	Stufenhöhe mm
0,785	95
0,522	74
0,347	47,5
0,251	35
0,907	122

In der oben beschriebenen Weise wurde mit einer frischen Carbidfüllung wiederum eine Eichkurve, Abb. 1, Kurve *b*, aus den in Tabelle 4 gezeigten Werten aufgestellt. Der Blindwert betrug hier nur etwa ein Drittel des vorherigen. Die Schreiberaufzeichnungen zeigten zwar keine Rücklaufspitzen wie in Abb. 1 (oben), was auf eine sehr rasche Umsetzung schließen läßt, sondern mündeten nach etwa 5 Minuten in den Blindwert ein. Die Meßwerte streuen weniger stark und die Eichkurve (Gerade *b* in Abb. 1) verläuft durch den Nullpunkt.

Nachdem sich nun diese Umsetzung als durchaus brauchbar erwiesen hatte, war — um Störungen durch in der Praxis der Mikroelementaranalyse meist vorhandenes Kohlendioxyd zu umgehen — dafür zu sorgen, daß nur aus der Acetylenverbrennung stammendes Kohlendioxyd in die Meßzelle gelangen kann. Zu diesem Zweck muß entweder das Wasser aus den Verbrennungsprodukten der Substanz entnommen oder ein Absorptionsmittel gefunden werden, das wohl Kohlendioxyd, aber nicht Acetylen absorbiert. Beide Wege wurden mit Erfolg beschritten. Bekanntlich nimmt wasserfreies Kupfersulfat leicht wieder Wasser auf. Das bei der Verbrennung entstandene Wasser wurde also an wasserfreies Kupfersulfat gebunden, das Kohlendioxyd abgepumpt und später durch Er-

hitzen des Kupfersulfats auf 450° C das Wasser wieder freigemacht und bestimmt.

Zwischen Verbrennungsofen und Carbidvorlage wurde zu diesem Zweck ein Rohr aus Jenaer Glas eingeschaltet, das zwischen zwei Quarzwollepfropfen eine entsprechend lange Füllung von wasserfreiem Kupfersulfat enthielt. Durch Erhitzen mit einer Gasflamme wurden die letzten Wasserreste ausgetrieben. Theoretisch benötigt man, um 1 mg H_2O aufzunehmen, 2,8 mg wasserfreies Kupfersulfat. Nimmt man aber gepulvertes Kupfersulfat und saugt verhältnismäßig rasch durch, so benötigt man etwa 4 mg Kupfersulfat je mg Wasser. Die Schicht für die Wasseraufnahme darf jedoch nicht zu groß und schon gar nicht zu dicht sein, da sonst ein Unterdruck in der Meßzelle entstehen kann. Mit dieser Arbeitsweise ist aber immer ein Zeitverlust verbunden, gleichgültig ob das Wasser an entwässertes Kupfersulfat oder an Bariumchlorid gebunden oder ob es ausgefroren wird.

Natronasbest ist bekanntlich ein vorzügliches CO_2-Absorptionsmittel und läßt, wie unsere Untersuchungen gezeigt haben, Acetylen quantitativ durch. Somit war auch der zweite, wesentlich kürzere Weg frei. Die Wasserstoffbestimmung verläuft demnach wie folgt:

Die organische Verbindung wird bei etwa 1200° C in reinstem Sauerstoff verbrannt, das dabei entstandene Wasser wird über Calciumcarbid geleitet; Acetylen gelangt mit dem übrigen Gasgemisch über Natronasbest, wobei Kohlendioxyd und Schwefeldioxyd absorbiert werden. Anschließend wird das Acetylen bei etwa 1000° C in reinem Sauerstoff zu Kohlendioxyd verbrannt. Nach den folgenden Reaktionsgleichungen

$$CaC_2 + 2\,H_2O \rightarrow C_2H_2 + Ca(OH)_2,$$
$$2\,C_2H_2 + 5\,O_2 \rightarrow 4\,CO_2 + 2\,H_2O$$

wird also pro Mol Wasser ein Mol Kohlendioxyd gebildet, das in gleicher Weise wie bei der Kohlenstoffbestimmung (S. 131) gemessen wird.

Allerdings zeigt sich relativ bald eine Erschöpfung des Carbids. Um diese mit Sicherheit nachzuweisen, wurde eine größere Anzahl Kupfersulfateinwaagen mit je 3 bis 4 mg Wasser nacheinander bei 450° C erhitzt, das frei gewordene Wasser durch ein mit etwa 300 mg Calciumcarbid gefülltes Röhrchen geleitet und das entstandene Acetylen zu Kohlendioxyd verbrannt. Die in Tabelle 5 angeführten Ergebnisse zeigen, daß die Anzeige des Leitfähigkeitsinstrumentes (mm Stufenhöhe) im Verhältnis zur Menge des eingewogenen Wassers immer kleiner wird, daß also eine zunehmende Erschöpfung des Carbids eintritt.

Um die Oberfläche des mit Wasser in Reaktion tretenden Calciumcarbids zu vergrößern und dessen Zusammenbacken bei der Reaktion zu verhindern, wurde das Carbid mit ausgeglühtem Seesand im Verhältnis 1 : 5 vermischt. Etwa 3 g dieser Mischung wurden in eine Glasfilternutsche

3 G 3 von 3,5 cm Durchmesser gefüllt, so daß sich eine 1,5 cm hohe Schicht ergab. Durch Verbrennung von 10 Oxalsäure-Einwaagen und jeweilige Ermittlung des Quotienten mg H_2O/mm Stufenhöhe wurde diese Anordnung geprüft (Tabelle 6).

Tabelle 5

Nr.	Einwaage mg $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	mg H_2O ber.	Stufenhöhe mm	mg H_2O/mm . 10^2
1	9,35	3,38	126	2,68
2	12,22	4,42	161	2,74
3	11,36	4,11	151	2,72
4	9,60	3,47	118	2,94
5	9,48	3,43	121	2,83
6	9,55	3,46	116	2,98
7	11,82	4,28	144	2,97
8	10,52	3,81	127	3,00
9	12,44	4,50	140	3,21
10	12,32	4,45	142	3,13
11	11,62	4,19	122	3,43
12	9,29	3,35	95	3,53
13	10,64	3,84	112	3,43
14	11,43	4,13	108	3,82
15	9,99	3,60	95	3,79

Tabelle 6

Nr.	Einwaage mg Oxalsäure	mg H_2O ber.	Stufenhöhe mm	mg H_2O/mm · $4{,}10^{2*}$
1	2,27	0,973	140	2,78
2	2,27	0,973	134	2,90
3	1,85	0,793	111	2,86
4	2,54	1,09	150	2,90
5	1,71	0,733	114	2,57
6	2,31	0,991	123	3,22
7	2,71	1,16	151	3,07
8	2,75	1,18	157	3,00
9	2,01	0,862	102	3,38
10	2,12	0,909	122	2,98

* Da bei den Versuchen der Tabelle 6 die Empfindlichkeit der elektrischen Anzeige vervierfacht wurde, ist auch das Verhältnis der berechneten Wassermenge zur Stufenhöhe vervierfacht, um mit den Angaben der Tabelle 5 vergleichbare Zahlen zu erhalten.

Die Meßergebnisse in Tabelle 6 lassen ebenfalls eine, wenn auch geringere Erschöpfung des Calciumcarbids erkennen. Die Mischung mit Seesand bietet also keine wesentliche Verbesserung der Verhältnisse. Allerdings hat man die Möglichkeit, das Sand-Carbidgemisch umzurühren,

so daß immer wieder frisches Carbid mit dem Wasser in Reaktion treten kann. Bei einem Versuch wurde tatsächlich nach dem Umrühren des bereits erschöpften Reaktionsgemisches ein erneuter Abfall des Quotienten auf den ursprünglichen Wert beobachtet.

Durch Einsatz eines frischen Carbidröhrchens für jede Verbrennung sollte versucht werden, die Erschöpfung des Calciumcarbids zu umgehen. Es wurden fünf Röhrchen präpariert. Durch jedes wurde vor dem Einschieben der Probe solange trockener Sauerstoff geleitet, bis ein erträglicher Blindwert erreicht war. Das war nach etwa 6 Minuten der Fall. Sodann wurde die Probe eingeschoben und verbrannt. Jede Einwaage (Oxalsäure) entsprach 1,0 bis 1,2 mg Wasser. Es wurden folgende Quotienten (mg H_2O/mm · 10^2) ermittelt: 3,14, 3,19, 3,37, 3,37 und 3,15. Die Schwankungen dieser Werte sind geringer als vorher und liegen durchaus in erträglichen Grenzen für die Wasserstoffbestimmung.

c) Die Absorption von Schwefeldioxyd

Da das Verbrennungsgas organischer und anorganischer, Schwefel und Kohlenstoff enthaltender Verbindungen neben Schwefeldioxyd stets auch Kohlendioxyd enthält, muß grundsätzlich eine Absorptionslösung verwendet werden, in der Kohlendioxyd nicht gelöst oder zumindest keine Störung der durch Schwefeldioxyd hervorgerufenen Leitfähigkeitsänderung verursacht wird. *Koch*, *Eckhard* und *Malissa* haben über die Prüfung geeigneter Absorptionslösungen bereits an anderer Stelle[15] berichtet.

Das einfachste Mittel zur Verhinderung der Kohlendioxydabsorption ist eine genügend hohe Acidität der Absorptionslösung. Der hohe Sauerstoffüberschuß in den Verbrennungsgasen genügt nicht, um in einer sehr schwach sauren Lösung das SO_2 zu SO_3 zu oxydieren. In einer verd. Schwefelsäure wird so z. B. nur ein Teil des Schwefels aus dem Verbrennungsgas zurückgehalten. Um das Schwefeldioxyd vollständig zu erfassen, muß man ein Oxydationsmittel hinzufügen. Verdünnte Salpetersäure kann nach vorläufigen Versuchen als geeignetes Absorptionsmittel angesprochen werden. Verdünnte, schwach saure Kaliumpermanganatlösungen sind hinsichtlich der Anzeigeempfindlichkeit als Absorptionslösungen gut verwendbar, haben aber den Nachteil, daß sich im Laufe der Zeit Braunstein ausscheidet und die Apparatur häufig gereinigt werden muß. Leider mußte das an und für sich sehr geeignete Cer(IV)-sulfat als Absorptionslösung ausscheiden, weil es nicht möglich war, eine entsprechend verdünnte, schwach saure Lösung herzustellen. Als bisher geeignetstes Reagens dient eine aus Thallium(III)-oxyd hergestellte, 0,004-n Thallium(III)-chloridlösung, die durch Zugabe verd. Salzsäure auf p_H 3 gebracht wurde. Hiermit konnten noch 0,165 μg S/mm Zeiger-

ausschlag[15] erfaßt werden, ohne daß damit die Grenze der Anzeigeempfindlichkeit schon erreicht wäre, da man bis zu einem gewissen Grad sowohl die Lösungen verdünnen als auch den elektronischen Teil der Apparatur verändern kann.

Etwas geringere Empfindlichkeit zeigt eine verdünnte, saure Kaliumbichromatlösung. Auch eine verd., schwach schwefelsaure Wasserstoffperoxydlösung ist gut verwendbar.

Die Empfindlichkeit des Verfahrens ist in hohem Maße von der Säurekonzentration der Absorptionslösung abhängig[15]. Je niedriger diese gehalten werden kann, um so größer ist die Empfindlichkeit. Allerdings darf man den zur Austreibung des Kohlendioxyds benötigten Säuregehalt nicht unterschreiten. p_H-Messungen einzelner Absorptionslösungen vor und nach der Begasung mit schwefeldioxydhaltigen Verbrennungsprodukten führten bei den in den vorliegenden Fällen geringen Schwefelmengen in keinem Falle zu einer merkbaren p_H-Verschiebung. Der günstigste p_H-Bereich liegt zwischen 2,5 und 3.

Ein gewisser Nachteil thalliumhaltiger Absorptionslösungen liegt in ihrer Giftigkeit. Es handelt sich aber immer nur um sehr verd. Lösungen.

Die geringen, bei der Verbrennung kleiner Mengen organischer oder anorganischer Substanzen entstehenden Wassermengen haben bisher ebensowenig einen Einfluß auf die Kohlenstoff- und Schwefelbestimmung gezeigt, wie die aus eventuell vorhandenem Stickstoff erzeugten Verbindungen; dies haben Bestimmungen von Sulfanilsäure, Thioharnstoff und anderen Verbindungen erwiesen. Chlor- und Bromionen stören, können aber durch Silberwolle entfernt werden.

Die Apparatur

Die Abb. 2 zeigt den schematischen Aufbau der Apparatur und Abb. 3 den Anblick der vollständigen Versuchseinrichtung. Sie besteht im wesentlichen aus folgenden Hauptteilen:

a) der Verbrennungseinrichtung mit Sauerstoffreinigung (Abb. 2, *1*),
b) dem Pumpensystem (Abb. 2, *6*),
c) den Meßzellen (Abb. 2, *7*) und
d) den Registriereinrichtungen.

a) Die Verbrennungseinrichtung

Grundsätzlich kann jede Verbrennungseinrichtung, die die notwendige Temperatur erreicht, verwendet werden. Wichtig ist bei dieser Arbeitsweise, daß das Verbrennungsrohr, ein Porzellan-, Hartglas-, Quarzglas- oder Platinrohr, nur *einseitig verschlossen* ist, da sonst das Pumpensystem nicht funktionieren kann. Außerdem ist eine weitere wesentliche Vereinfachung des Verbrennungsrohres möglich, da zumindest nach den

bisherigen, *aber noch unvollständigen Untersuchungen* keine Füllung mit irgendwelchen Chemikalien notwendig ist. Die in der Eisen- und Stahluntersuchung üblichen Verbrennungsrohreinrichtungen haben sich auch bei der Untersuchung organischer Verbindungen sehr gut bewährt. Selbstverständlich kann aber bei der organischen Kohlenstoffanalyse das für besonders hohe Temperaturen notwendige Porzellanrohr durch ein Hartglasrohr entsprechender Abmessungen ersetzt werden. An Stelle der Porzellanschiffchen ist es zweckmäßig, die blindwertärmeren Mikroplatintiegel oder -schiffchen zur Aufnahme des Analysengutes zu verwenden. Zum Einschieben dieser Platintiegel wurde eine Vorrichtung aus Quarz geschaffen[14]. Speziell für die Mikroanalyse wurde ein kleiner elektrischer Verbrennungsofen gebaut[2], der sowohl in senkrechter als auch waagrechter Lage verwendet werden kann. Bei hohen Temperaturen kommt es sehr oft zu explosionsartigen Verbrennungen. Wie Versuche mit Thioacetamid und mit Molybdäncarbid gezeigt

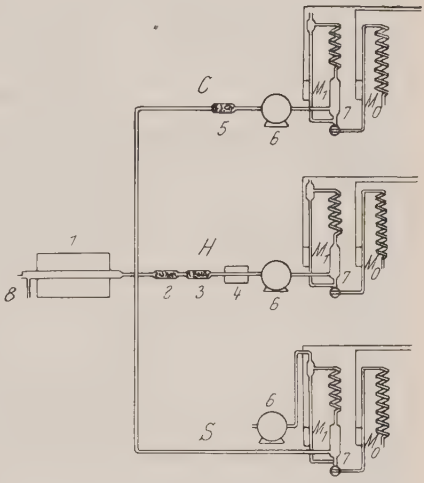


Abb. 2

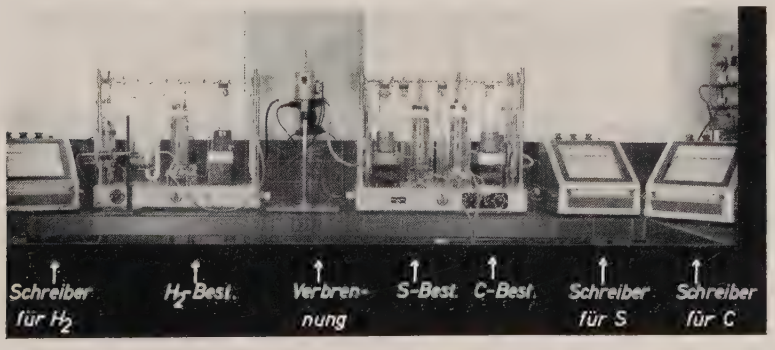


Abb. 3

haben, hat ein so heftiger Verbrennungsvorgang auf die Bestimmung der gasförmigen Komponenten keinen wesentlichen Einfluß, wohl aber auf die eventuelle Analyse des Metallrückstandes. Bei der plötzlichen Verbrennung wird nämlich ein Teil des Materials fein zerstäubt und geht so einer Rückstandsbestimmung verloren. Vollständige Zersetzung findet auf jeden

Fall statt. Das plötzliche Auftreten hoher Kohlensäure- bzw. Schwefeldioxydkonzentrationen hat keinen nachteiligen Einfluß, da das Pumpensystem stark genug ist, um die Gase abzusaugen. In jüngster Zeit wurde auch versucht, den Mikroplatintiegel mit Hilfe eines kleinen Hochfrequenzofens direkt zu erhitzen. Im Prinzip ist auch diese Frage gelöst.

b) Das Pumpensystem[19]

Einer der wichtigsten Bestandteile der ganzen Apparatur ist das Pumpensystem, das die bei der Verbrennung entstehenden Gase unter konstantem Druck absaugt und in die Meßzellen befördert. Für jede Meßzelle, das heißt für jede Gaskomponente ist ein eigenes Pumpenaggregat notwendig. Wie bereits erwähnt, ist die Umsetzung zwischen der Absorptionslösung und dem Kohlendioxyd nicht vollständig, daher muß unter allen Umständen für eine konstante Gasförderung gesorgt werden.

Der bei *8*, Abb. 2, mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 3 l/min eingeführte, gereinigte Sauerstoffstrom ist wesentlich rascher als der von der Pumpe abgesaugte Gasstrom, so daß noch ein großer Teil des Sauerstoffs das Rohr an der Beschickungsseite verläßt und dabei das Eindringen von Außenluft verhindert. Das kohlensäurehaltige Verbrennungsgas wird vor Eintritt in die Pumpe noch durch ein mit einem Ionenaustauscher gefülltes Absorptionsröhrchen geleitet, in dem bei der Verbrennung entstandenes Schwefeldioxyd absorbiert wird. Da Schwefeldioxyd die Leitfähigkeit der Natronlauge ebenfalls beeinflußt, muß es bei der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung vollständig entfernt werden. Die Absorption muß vor der Pumpe erfolgen, um eine Verschmutzung des Öles mit Schwefeldioxyd zu vermeiden. Öle lösen Schwefeldioxyd und geben es langsam wieder ab.

Die Meßpumpe saugt stets eine konstante Gasmenge an und befördert sie unter einem Druck von etwa 80 mm Hg in den Reaktionsteil der Meßzelle.

c) Die Meßzellen[19]

Zur Messung der Leitfähigkeitsänderung dient die Meßstrecke M_1 und die Vergleichsmeßstrecke M_0 (Abb. 2). Beide werden zu Beginn des Versuchs mit der gleichen Absorptionslösung gefüllt. Die zu absorbierende Komponente wird nur durch die Meßstrecke M_1 geführt, in der sich mit ihrem Eintritt die Leitfähigkeit ständig ändert. Hat sie M_1 durchströmt, so stellt sich ein Endwert der Leitfähigkeit ein, der dem Gehalt der Probe entspricht. Während der Absorption wird der Leitfähigkeitsunterschied beider Meßstrecken gemessen.

Die Umsetzung zwischen Gaskomponente und Absorptionslösung findet in den Meßzellen statt, die prinzipiell gleich aufgebaut sind. Um

an den Meßstrecken gleiche Temperaturen sicherzustellen, befinden sich nicht nur diese, sondern auch die Glaswendel und der Reaktionsteil in einem Ölbad, das durch Einblasen von Luft dauernd umgewälzt wird. Für eine möglichst genaue Temperaturkonstanz muß gesorgt werden, da bekanntlich 1° Temperaturdifferenz eine Änderung der Leitfähigkeit um 2% zur Folge hat.

d) Die Registriereinrichtungen

Die Leitfähigkeitsänderung wird als Differenzwert nach elektrischer Verstärkung auf einen Kompensations-Linienschreiber mit Nullmotor (Servomotor) übertragen und aufgezeichnet. Wenn sich in beiden Meßstrecken frische Lösung befindet, so stellt sich der Zeiger bzw. der Schreiber auf den Nullpunkt bzw. auf den Blindwert ein. Der Nullpunkt kann mit Hilfe von Potentiometern in verhältnismäßig weiten Grenzen stufenlos verändert werden. Durch eine besondere Vorrichtung kann die Empfindlichkeit sowohl am elektrischen Teil als auch im Leitungssystem verändert werden. Bei der Gaszuführung wird durch Öffnen eines Hahnes kohlendioxydfreie Außenluft zwecks Verdünnung der stark kohlensäurehältigen Gase mit angesaugt, wodurch das Gas in einem bestimmten Verhältnis geteilt und somit nur ein Teil der ursprünglichen Verbrennungsgase in die Absorptionszelle befördert wird.

Der Verbrennungsablauf

Nach der Umsetzung des Kohlenstoffs, Wasserstoffs und des Schwefels mit dem Sauerstoff im Verbrennungsrohr wird das Gasgemisch von dort durch das Leitungssystem gepumpt und gelangt nach zirka 40 Sekunden in die Meßstrecke. Wenn sich bei explosionsartigen Verbrennungen die Verbrennungsgase vor der Absorption in der Meßstrecke noch nicht völlig gleichmäßig verteilen konnten, entsteht an einigen Stellen eine Überkonzentration und daher eine zu hohe Leitfähigkeitsänderung, die sich durch die Ausbildung einer scharfen Spitze zu erkennen gibt. Erst bei voller Durchmischung in der Meßstrecke stellt sich der Endwert ein. Man darf daher die Auswertung erst beginnen, bis der Schreiber wieder den Blindwert mit gleichbleibender Steigung anzeigt. Der Meßwert entspricht dann dem waagerechten Abstand der beiden Blindwertsgeraden[14,15,20,21].

Bei schwer verbrennbaren Materialien oder bei zu niedriger Ofentemperatur verläuft die Verbrennung langsam und man erhält dann Kurvenzüge ohne Rücklaufspitzen.

Das Eichen

Die Eichung wird mit Testsubstanzen, deren Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Schwefelgehalt bekannt ist, vorgenommen. Üblicherweise

verbrennt man bei organischen Verbindungen 1 mg. Mit Hilfe eines Potentiometers wird nach der Verbrennung die Empfindlichkeit so eingestellt, daß der angezeigte Wert mit dem Sollwert, bezogen auf die Einwaage, übereinstimmt. Häufiger aber errechnet man aus der in der Testsubstanz enthaltenen absoluten Menge Kohlenstoff, Wasserstoff bzw. Schwefel den einem Millimeter Zeigerausschlag entsprechenden Faktor, mit dem bei der Analyse einer unbekannten Substanz der in Millimeter gemessene Zeigerausschlag zu multiplizieren ist, um die in der Probe enthaltenen Mengen an Kohlenstoff, Wasserstoff und Schwefel zu erhalten. Zur Eichung dürfen nur besonders homogene Proben herangezogen werden, die auch bei langer Aufbewahrung keine Veränderung erleiden.

Es ist bekannt, daß auch gereinigter Sauerstoff stets noch kleine Mengen Kohlensäure enthält, die bei geringen Kohlenstoffmengen berücksichtigt werden müssen. Diese kleinen Kohlensäuremengen werden, wenn sie nicht vorher durch Absorption an Natronkalk entfernt werden, von dem Gerät sicher erfaßt und aufgeschrieben. Je nach dem Material des Verbrennungsrohres, der Temperatur und der Gasströmungsgeschwindigkeit kann aber noch immer ein Blindwert auftreten, dessen Herkunft noch nicht genau geklärt ist.

Die objektive Aufzeichnung des gesamten Verbrennungsablaufs durch das Schreibgerät macht diese Bestimmungsmethode nicht nur für die Auswertung und Überwachung von Routineanalysen brauchbar, sondern insbesondere für wissenschaftliche Untersuchungen; denn erst jetzt kann darüber geurteilt werden, wie und wann die Verbrennung vor sich gegangen ist. Ein Unterschied der Verbrennbarkeit verschiedener Kohlenstoffverbindungen in einer Einwaage gibt sich durch Stufenausbildung zu erkennen. Ein interessantes Beispiel hierfür bietet die differenzierte Verbrennung von Graphitkohlenstoff und Gesamtkohlenstoff im Grauguß[14], womit bewiesen wurde, daß bei Temperaturen zwischen 600 und 700° C nur Graphitkohlenstoff verbrennt und erst bei Temperaturen über 800° C der Carbidkohlenstoff. Ähnliche Untersuchungen können auch in der organischen Analyse von Wert sein. Die Variationsmöglichkeiten, insbesondere in Verbindung mit der kontinuierlichen Temperaturregistrierung einer Thermowaage können besonders für die organisch-chemische Synthese und Betriebskontrolle bedeutungsvoll werden.

Bisher liegen noch wenig Erfahrungen vor, die über das Prinzip der Arbeitsweise hinausgehen; zu gegebener Zeit sollen weitere Mitteilungen an dieser Stelle folgen.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. *W. Koch* vom Max Planck-Institut für Eisenforschung für wertvolle Anregungen und Diskussionen sowie Herrn Ing. *W. Schmidts* von der Herstellerfirma H. Wösthoff, Bochum, für apparative Hilfe herzlich danken.

Zusammenfassung

Die bei der Verbrennung anorganischer und organischer Substanzen gebildeten Oxydationsprodukte des Kohlenstoffs, des Wasserstoffs und des Schwefels verursachen in geeigneten Absorptionslösungen Veränderungen der Leitfähigkeit, deren Messung für die quantitative Bestimmung der genannten Elemente herangezogen wird. Das Verfahren zeichnet sich durch große Empfindlichkeit und rasche Durchführbarkeit aus. Eine einzelne Bestimmung benötigt nach der Einwaage im Durchschnitt 2,5 Minuten, die Gesamtanalysendauer liegt bei 10 Minuten. Ein weiterer Vorteil liegt darin, daß außer der Einwaage keine weiteren Wägungen nötig sind. Die kontinuierliche Aufzeichnung der Leitfähigkeitsänderung gibt über den Verbrennungsvorgang einige Aufschlüsse.

Summary

The oxidation products of carbon, hydrogen, sulfur produced in the combustion of inorganic and organic substances alter the conductivity of suitable absorption solutions. This characteristic is employed for the quantitative determination of the these elements. The procedure is characterized by high sensitivity and rapidity of execution. As an average, excluding the weighing of the sample, a single determination takes 2.5 minutes, the entire time for the analysis is 10 minutes. An additional advantage resides in the fact that no further weighings are needed beyond the weighing of the sample. The continuous registration of the conductivity yields information about the course of the combustion process.

Résumé

Les produits d'oxydation du carbone, de l'hydrogène et du soufre qui se forment lors de la combustion de substances minérales et organiques provoquent dans une solution absorbante appropriée des variations de la conductibilité dont la mesure est utilisée pour la détermination quantitative des éléments cités. Le procédé se distingue par sa grande sensibilité et sa grande vitesse d'exécution. Une détermination isolée nécessite après la pesée un temps moyen de 2,5 minutes, la durée totale de l'analyse étant voisine de 10 minutes. Un autre avantage réside dans le fait qu'une seule pesée est nécessaire celle de la prise d'essai. L'enregistrement continu des variations de conductibilité donne en outre quelques renseignements sur le processus de combustion.

Literatur

[1] *J. Lindner*, Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 2025 (1922); Mikromaßanalytische Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs mit grundlegender Behandlung der Fehlerquellen in der Elementaranalyse. Berlin: Verlag Chemie. 1935; *J. Lindner* und *G. Zienert*, Mikrochem. **31**, 254 (1943).

[2] *J. Lindner*, Z. analyt. Chem. **66**, 305 (1925).

[3] *C. J. van Nieuwenburg*, Mikrochim. Acta [Wien] **1**, 71 (1937).

[4] *R. Belcher*, *J. H. Thompson* und *T. S. West*, Analyt. Chim. Acta **19**, 148 (1958).

[5] *R. Belcher* und *G. Ingram*, Analyt. Chim. Acta **4**, 118 (1950).

[6] *G. Ingram*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 877.
[7] *J. Unterzaucher*, Chem.-Ing.-Techn. **22**, 39 (1950).
[8] *A. Johannson*, Analyt. Chemistry **26**, 1183 (1954).
[9] *J. J. Naughton* und *M. M. Frodyma*, Analyt. Chemistry **22**, 711 (1950).
[10] *D. D. van Slyke* und *J. Folch*, J. Biol. Chem. **136**, 509 (1940).
[11] *W. Schöniger*, Helv. Chim. Acta **39**, 650 (1956); Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 545.
[12] *R. J. Cain* und *L. C. Maxwell*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **11**, 852 (1919).
[13] *J. E. Still*, *L. A. Dauney* und *R. C. Chirnside*, Analyst **79**, 4 (1954).
[14] *W. Koch* und *H. Malissa*, Arch. Eisenhüttenwes. **27**, 695 (1956).
[15] *W. Koch*, *S. Eckhard* und *H. Malissa*, Arch. Eisenhüttenwes. **29**, 543 (1958).
[16] *D. F. Dailly* und *T. A. Elliot*, J. Chem. Soc. **1956**, 3398; *R. Boulin*, Chim. analytique **1958**, 72.
[17] *Sheau-Shya Kao* und *W. C. Woodland*, Mikrochem. **38**, 309 (1951).
[18] *K. Gardner*, *W. J. Rowland* und *H. Thomas*, Analyst **75**, 173 (1950).
[19] *W. Schmidts* und *D. Baasch*, Forschungsber. Wirtschafts- und Verkehrsmin. NRW Nr. 67 (1954), Westdeutscher Verlag Opladen.
[20] *H. Malissa*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 553.
[21] *H. Malissa*, Proceedings of the Birmingham Symposium on Analytical Chemistry 1958, im Druck.

From the Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Hebrew University, Jerusalem, and from the Department of Preventive Medicine, Hebrew University, Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

Ultramicro Determination of Iodine in Drinking Water on the Basis of Feigl's Catalytic Reaction

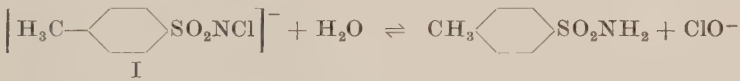
By

Ervin Jungreis and **Itzhak Gedalia**

With 3 Figures

(Received June 27, 1959)

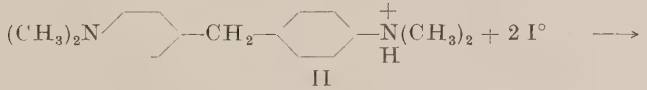
A very sensitive iodine test has been described by *Feigl* and *Jungreis*[1]. The method is based on the catalytic acceleration of the redox reaction between chloramine T (sodium *p*-toluene sulfone chloramide) (I), and tetra base-acetate (acetate of N,N′-tetramethyldiaminodiphenylmethane) (II). If the concentrations of both reaction partners are kept within certain limits, the oxidation proceeds very slowly because the hydrolysis of chloramine T in water solution



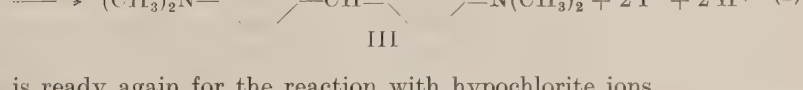
I

produces hypochlorite, of which the concentration is not sufficient to oxidize the tetrabase into the blue semiquinoidal compound. Very small quantities of iodide-iodine catalyse the reaction. This effect is explained by (1) the liberation of free iodine, and (2) the oxidation of tetrabase into the blue quinoidal product (III), whereby iodide is recovered

$$ClO^- + 2\,I^- + 2\,H^+ \longrightarrow Cl^- + H_2O + 2\,I^\circ \qquad (1)$$



II



III

and is ready again for the reaction with hypochlorite ions.

The blue compound formed is highly unstable; it changes within a few minutes to produce a green or greenish-yellow coloration. It is assumed that the latter is the final oxidation product, with full quinoidal structure.

Our aim was to develop a micro method for the determination of minute quantities of iodine, based on this reaction.

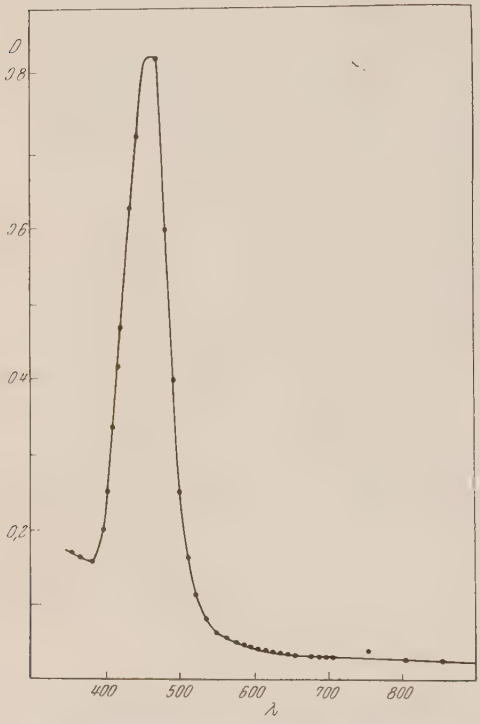


Fig. 1. Absorption Spectrum of the Final Compound of the Iodide Catalysed Chloramine T-Tetrabase System

The main difficulty was that the ratio of both reaction products showed great variety, according to reaction time, concentration, and p_H. The elaboration of a chronometric method was not possible, because the reaction time required was not inversely proportional to the iodine concentration.

Some spectrophotometric measurements were carried out in order to determine possible conditions for the microdetermination of iodine. The absorption spectrum of the yellow-green compound showed a maximum at wavelength 460 nm (see Fig. 1). The absorbance of this compound is relatively low. The formation of the yellow-green coloration from the blue semiquinoidal compound is complete within a few minutes. Although both reaction rates are dependent on the iodine concentration, nevertheless the absorption of the yellow-green compound was found to be nearly constant in the time interval 5–15 minutes from the start of the reaction, when the iodine contents of the samples were in the range 0.1–1 μg. In spite of this relative stability of the yellow-green compound, we do not recommend an iodine determination method based on the measurement of absorption at 460 nm, because of its low absorbance.

We investigated further the labile blue compound, whose absorption maximum lies at 600 nm. The optical densities of the iodine-catalysed reaction-product at 600 nm plotted versus time gave a straight line increasing to a maximum, and then decreasing gradually, approaching

zero after some minutes (see Fig. 2). The optical density is made up of mixtures in various ratios of both the blue and the green reaction products.

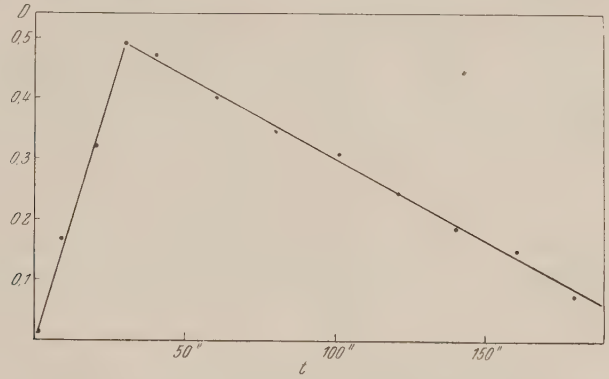


Fig. 2. Variation of Optical Density with Time of the Tetrabase-Iodide-Chloramine T Mixture, Measured at 600 nm

At the beginning of the reaction the blue colour develops, gradually going over to green. The latter shows no absorption at 600 nm. The

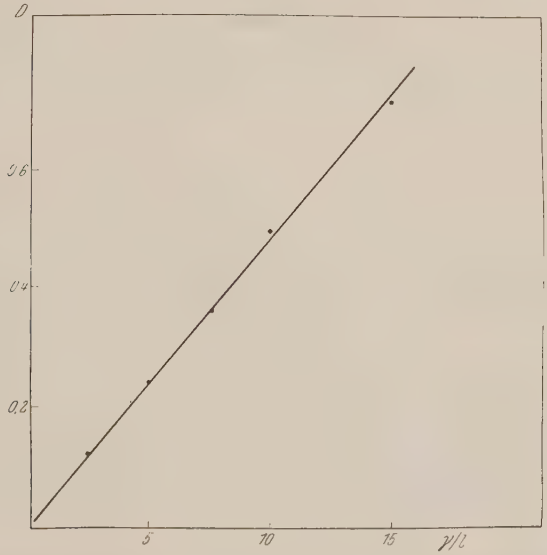


Fig. 3. Dependence of Maximal Optical Density of Chloramine T-Tetrabase Mixture on Iodide Content, Measured at 600 nm

maximum shows the equilibrium point at which the amount of blue compound formed is equal to the amount of the blue compound decomposed.

It was found, that the maximal value of optical density, measured against time at 600 nm, was proportional to the iodine content in the tetrabase-chloramine T redox system, in the range of 0.025–0.20 μg iodide in a 14-ml volume (see Fig. 3).

The optimal p_H range in which the reaction proceeds is 4.6–4.8.

Chlorides have no effect on the reaction; relatively large quantities of bromides interfere. Nevertheless, the determination of 0.025 μg iodide is still possible in the presence of 100 μg bromide.

Determination of Iodine in Drinking Water

The relationship between lack of iodine in water supplies and foodstuffs and endemic goitre is a known fact[2–4]. Figures as small as 0–5 μg iodine per litre have been reported in water supplies from goitre centres in Switzerland, Germany, Austria, Jugoslavia and Spain. Several methods of considerable sensitivity and accuracy are available for the measurement of small amounts of iodine. The most commonly used method depends upon the catalytic action of iodide ion on the reduction of ceric to cerous ion by arsenious acid[5]. For routine use in the measurement of such small amounts of iodine as occur in water, the following method is presented.

Experimental

Apparatus. Schaar and Co.'s Bausch & Lomb spectronic 20 colorimeter was used, with optical glass tubes of inside dimensions of 22.35 mm and of 6 inches in length.

Reagents

1. Tetrabase-acetate solutions: (a) stock solution. A saturated solution in 2 *N* hot acetic acid of tetramethyldiaminodiphenylmethane (Tetrabase) Eastman Product was prepared. (b) Working solution. 2 ml of the stock solution were diluted in 100 ml water.

2. Chloramine T. 20 mg purest chloramine-T were dissolved in 100 ml water. The solution must be freshly prepared.

3. Acetate-buffer p_H 4.8.

4. Standard iodide solutions: 100 mg potassium iodide were dissolved in a 100-ml volumetric flask. One ml of such a solution contains 1 mg potassium iodide. With successive tenfold dilutions standard solutions with 100, 10, 1, 0.1, 0.01 μg, potassium iodide per milliliter respectively were prepared.

Procedure. 10 ml of the water sample were pipetted into an ordinary test tube. 1 ml of the buffer solution, and 2 ml of the tetrabase-acetate working solution were added. After mixing, the contents were transferred to the optical glass tube. The measurements were carried out at 600 nm. The solution itself serves as blank before addition of chloramine-T,

and after setting at 100% transmittance on the apparatus, 1 ml of the chloramine-T solution was added and the solution was vigorously shaken. The tube was replaced rapidly in the apparatus. The optical density rises progressively with the time, and after about 30 seconds approaches its maximal value. The density of this equilibrium point is the basis of the method, because its magnitude is proportional to the iodide content. The optical density then decreases and within 3–4 minutes approaches zero, but this part of the reaction is not of interest from the point of view of the analytical method.

The amount of iodide is deduced from a previously prepared calibration curve. Suitable amounts of potassium iodide to be used as standards are 0.025, 0.050, 0.1, 0.15 μg per 14 ml.

Acknowledgment

The authors are indebted to Prof. Dr. *Fritz Feigl*, Laboratorio da Producão Mineral, Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro, for his interest in this work.

Summary

A quantitative ultramicro method is given for the determination of 0.025–0.2 μg iodide-iodine in 14 ml volume, on the basis of the catalytic acceleration of the redox reaction between chloramine-T and N,N′-tetramethyldiaminodiphenylmethane. The method is especially suitable for the determination of traces of iodine in drinking water.

Zusammenfassung

Eine quantitative Ultramikromethode für die Bestimmung von 0,025 bis 0,2 μg Iodid in 14 ml Lösung wurde beschrieben. Sie beruht auf der katalytischen Beschleunigung der Redoxreaktion zwischen Chloramin T und N,N′-Tetramethyldiaminodiphenylmethan. Die Methode ist besonders geeignet für die Bestimmung von Jodspuren in Trinkwasser.

Résumé

Description d'une ultramicrométhode quantitative pour le dosage de 0,025 à 0,2 μg d'iodure et d'iode dans un volume de 14 ml, fondée sur l'accélération catalytique de la réaction d'oxydo-réduction entre la chloramine-T et le N,N′-tétraméthyldiaminodiphénylméthane. La méthode est particulièrement appropriée au dosage de traces d'iode dans l'eau potable.

References

[1] *F. Feigl* and *E. Jungreis*, Z. analyt. Chem. **161**, 87 (1958).

[2] *J. B. Orr*, Med. Res. Counc., Spec. Rep. Ser. No. 154, London 1931.

[3] *R. McCarrison* and *K. B. Mauhawa*, Ind. Med. Res. Memoirs, No. 23. Calcutta, Thacker, Spink & Co. Ltd. 1932.

[4] *Margaret M. Murray, J. A. Ryle, Beatrice W. Simpson*, and *Dagmar C. Wilson*, Med. Res. Counc. Mem. No. 18. London 1948.

[5] *F. B. Sandell* and *I. M. Kolthoff*, Mikrochim. Acta [Wien] **1**, 9 (1937).

From the Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan

A New Simple Nitrometer for Dumas Nitrogen Determination

By

Tetsuo Mitsui

With 4 Figures

(Received June 30, 1959)

The conventional Pregl nitrometer has been found to be unsatisfactory for the following reasons.

The rubber tubing which connects the levelling bulb and nitrometer contaminates the potassium hydroxide solution. As the rubber tubing is soon damaged by the strong alkali solution, the solution often leaks out through cracks in the tubing. Moreover the graduated tube is sometimes contaminated by grease from the upper stopcock.

C. Weygand[1], *A. Müller*[2], and *E. Stehr*[3] have proposed types of nitrometer using no rubber tubing. It is true that *Stehr*'s ball and socket nitrometer is an excellent device to prevent contamination from both of the sources mentioned above; however it has a somewhat complicated structure, and sometimes a leakage of the alkali solution through the ball-socket valve has been observed.

A new nitrometer described here has the following advantages. No rubber tubing is used, so that the nitrometer is free from the troubles caused by the rubber tubing. With the nitrometer, neither frothing of the alkali solution nor sticking of gas bubbles to the mercury surface have been experienced even though no reagents such as barium hydroxide, calomel or *iso*propyl alcohol are added to the alkali solution. The volume of nitrogen in this nitrometer can be measured directly without a levelling operation, and it is reduced to the volume under atmospheric pressure by subtracting a correction value.

Description of the Nitrometer

Stehr's nitrometer has been modified by replacing the top ball-socket valve with a plunger of "Daiflone" (polymer of difluoroethylene) and

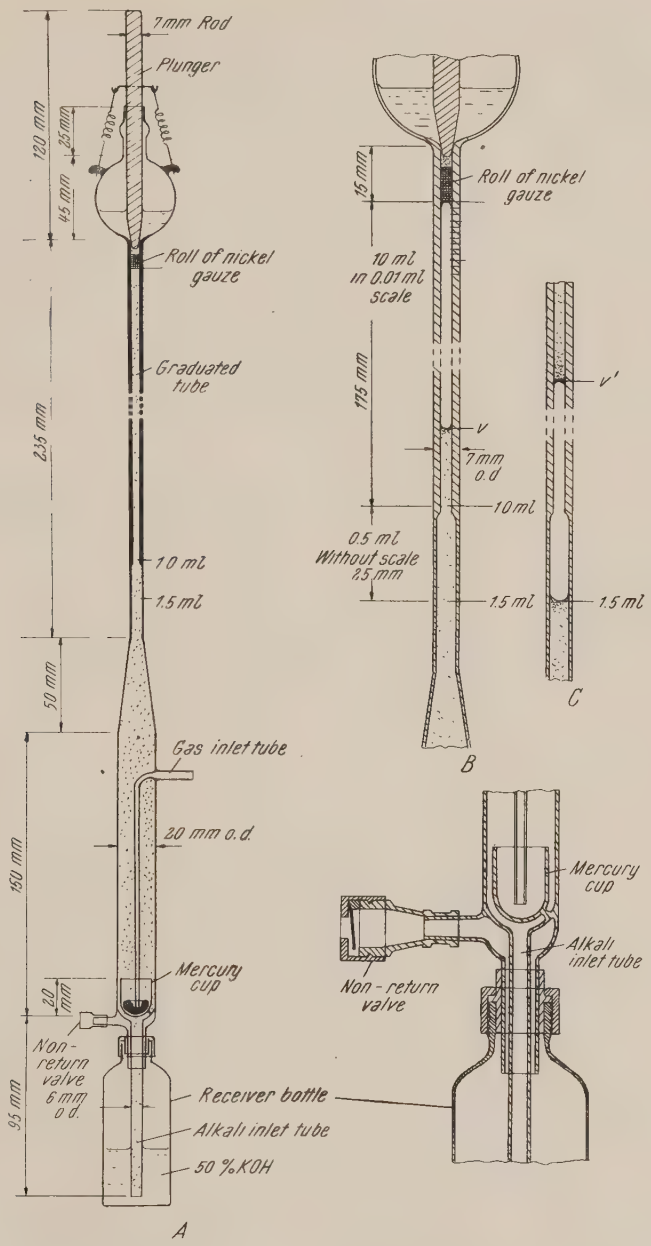


Fig. 1

the pressure regulating by-path tube used in *Stehr*'s nitrometer is removed as shown in Fig. 1. As the Daiflone has a suitable flexibility, the tapered

end of the plunger is fitted firmly into the upper orifice of the graduated tube, and requires no lubricant for its operation. The contact of the plunger favours separation, and freezing by the alkali does not take place.

A mercury cup is sealed in at three points to the bottom of the nitrometer, and makes it possible to pass the potassium hydroxide solution through a space between the mercury cup and the inside wall of the nitrometer.

The receiver bottle for the potassium hydroxide solution is made of polyethylene, and is fixed at the bottom of the nitrometer by means of a polyethylene bushing and a screw-cup; it makes the lower end of the alkali inlet tube reach nearly to the bottom of the receiver bottle. A non-return valve of polyethylene is connected to a side-tube. The air can enter freely into the receiver bottle through the valve, but it can not go out without resistance.

The details of the construction of the graduated tube are shown in Fig. 1 (*B*) and (*C*). The zero mark of the graduation is situated at a point ca. 15 mm below the upper orifice of the tube. A small roll of nickel gauze (ca. 100-mesh, 10 mm long) is inserted into the tube and so situated that the lower end of the roll comes to the zero line of the graduation. The nickel gauze roll serves to prevent the nitrogen bubbles at the lower end of it from rising, and makes the top meniscus of the nitrogen column remain at the zero line. As the position of the nickel gauze roll can be chosen freely, the graduation can be initiated without regard to its original position, and error caused by the upper stopcock is entirely eliminated by the device.

To obtain accurate readings of the volume, it is an advantage to make a unit division as wide as possible. In this laboratory it has been found that most nitrogen determinations (ca. 96 per cent of the total analyses) have been carried out at the interval of $0.00 \sim 1.00$ ml of the nitrogen volume. Therefore two kinds of the graduation are marked on a tube. The upper part of 17.5 cm long is graduated from zero to 1.00 ml with the space between the divisions corresponding to 0.01 ml, so that the length of a unit division comes to 1.75 mm; therefore the volume of nitrogen can easily be measured without a lens. The scale of 1.50 ml is marked 25 mm below the 1.00 ml line without any interval division.

Filling and Operating the Nitrometer

To add mercury to the nitrometer, a small funnel is connected to the gas-inlet tube by means of a piece of vinyl tubing, and a suitable amount of mercury is added to the nitrometer through the funnel. Then the potassium hydroxide solution is filled into the receiver bottle to about 80 per cent of its capacity and the bottle is fixed to the nitrometer

as illustrated. The Daiflone plunger and non-return valve are placed as shown in Fig. 1. To fill the nitrometer with the potassium hydroxide solution, raise the plunger and apply pressure to the receiver bottle. When the solution has risen about half-way in the nitrometer, lower the plunger and release the pressure on the bottle. The air is drawn into the bottle through the non-return valve. By repeating these operations three or four times the nitrometer is filled with the alkali solution. It is used in this condition for collecting the nitrogen.

To drain the nitrometer, simply raise the plunger, and the air in the receiver bottle emerges through the non-return valve. The valve is not perfectly non-returnable so that gradual leakage of the air is allowed.

Fig. 2

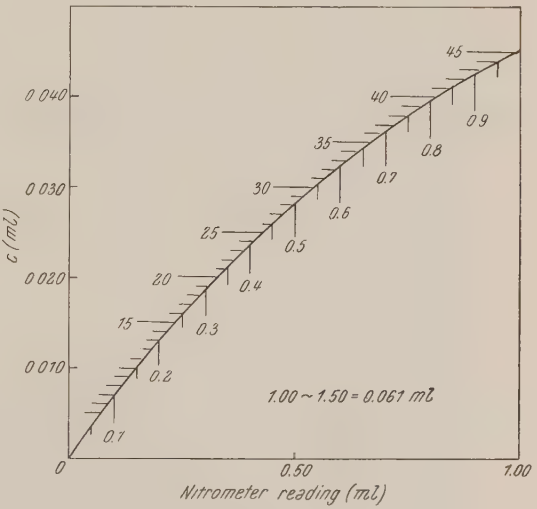


Fig. 3

To determine the nitrogen, it is necessary to know the volume of the nitrogen at atmospheric pressure. As shown in Fig. 2, the pressure (p) of nitrogen collected in the nitrometer is represented by the following equation (1).

$$p = P - \varrho H. \tag{1}$$

Where P is the atmospheric pressure, ϱ is the density of the potassium hydroxide solution in the nitrometer, and H is the distance between the bottom meniscus of the nitrogen column and the level of alkali solution in the receiver bottle. If p is known, the volume of the nitrogen

can be reduced to the volume under atmospheric pressure by the following equation (2).

$$V = v - (H - h)\, v\, \varrho / P, \qquad (2)$$

where V is the volume under the pressure P, v is the nitrogen volume taken under pressure p, h is the height of column of the hydroxide solution rising up in the tube by capillary attraction. The value of h was actually determined to be 0.9 cm by dipping the graduation tube into potassium hydroxide solution. The density (ϱ) has been measured with a solution of analytical reagent grade potassium hydroxide in an equal amount of water, and found to fall within a range of 1.445 ± 0.002 (25° C). During a series of analyses carried out with the nitrometer, it is assumed that the solution will suffer a change in density owing to the formation of carbonate. To determine this, the density of the exhausted solution has been comparatively measured and it was found that the density of the fresh solution has increased only by 0.015 when exhausted. As this increment and temperature coefficient (0.0057/10° C) of the density of the solution are both negligible, it is sufficient to take ϱ as a constant.

Tolerable deviations of the values of p, H and ϱ calculated from the equation (2) are shown in Table I. Each of the deviations corresponds to 0.001 ml of nitrogen volume.

Table I

Factor	Tolerable deviation
Density of the alkali solution	0.0282
Height of the alkali solution	7.2 mm
Atmospheric pressure	15.0 mm Hg

When the nitrometer is being used, it is unnecessary to set the level of the alkali solution in the receiver bottle strictly because variation of the H value is tolerable to an extent of $\pm$ 0.72 cm.

Table II

v	$H - h$	$v(H - h)$	$c = v(H - h)/P$
1.50	29.1	43.65	0.061
1.00	31.9	31.90	0.045
0.90	33.55	30.20	0.042
0.80	35.20	28.16	0.039
0.70	36.85	25.80	0.036
0.60	38.50	23.10	0.032
0.50	40.15	20.08	0.028
0.40	41.80	16.72	0.023
0.30	43.45	13.04	0.018
0.20	45.10	9.02	0.013
0.10	46.75	4.68	0.007

For practical use, a correction curve is prepared to reduce the volume of nitrogen to the volume under atmospheric pressure. Table II shows the correction values c calculated from the equation (2). Fig. 3 shows a correction curve plotted from the correction values c of Table II graphically.

The nitrogen content is therefore calculated as:

$$N\% = 100 \cdot F \cdot f \cdot (v - c)/S,$$

where F is the weight of 1 ml nitrogen at P mm and $t°$ C, f is the summarized correction factor at $t°$ C (obtained from the Table of *Hozumi*[4]). v is the volume

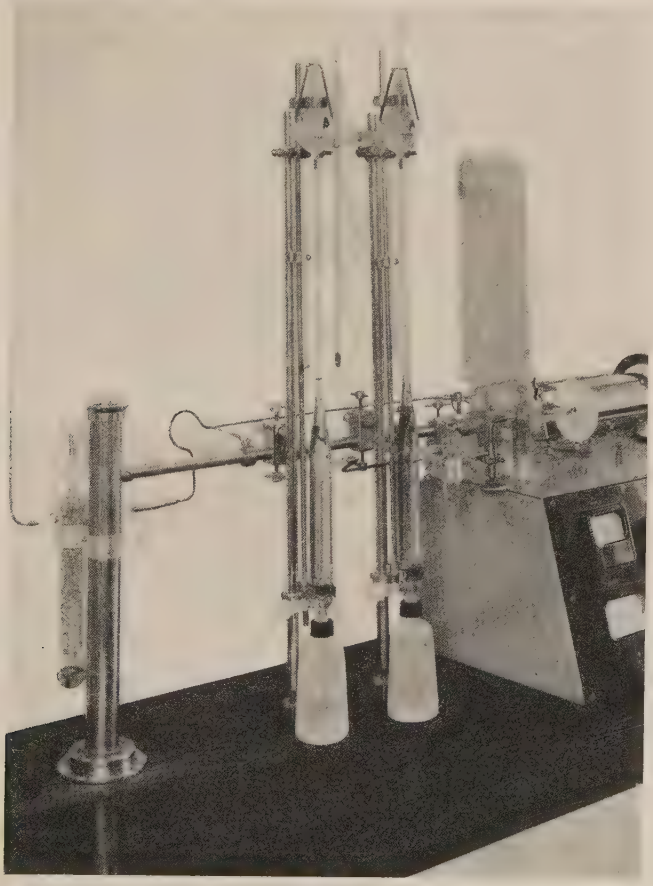


Fig. 4

of nitrogen corrected for calibration and for blank, c is the correction value obtained from the curve of Fig. 3, S is the weight of the sample, P is the barometric pressure in the laboratory, t is the temperature recorded.

For example:

$P = 757$ mm, $t = 17.8°$ C, $v = 0.717$ ml, $S = 7.595$ mg,
$F = 1.1686$ (at 757 mm and 17.8° C),
$f = 0.985$ (at 17.8° C), $c = 0.036$ ml (from Fig. 3),
$N\% = 100 \cdot 1.1686 \cdot 0.985 \cdot (0.717 - 0.036)/7.595 = 10.32.$

If the volume of nitrogen collected exceeds 1.000 ml, raise the plunger slightly so that the nitrogen column is lowered until the bottom meniscus reaches the scale line of 1.50 ml as shown in Fig. 1 (*C*), and read the upper meniscus (v'). The nitrogen volume v is calculated from $v = 1.500 - v'$. The correction value (c) is a constant with a value of -0.061 ml between 1.00 and 1.50 ml because the H value is constant between this range.

Fig. 4 shows the nitrometers assembled with the combustion train. A pair of nitrometers is used alternately for routine analysis. The present author has been using the nitrometer with success for the past three years.

Summary

An improved nitrometer for the *Dumas* nitrogen determination is described. The nitrometer has a stop valve of Daiflone (difluoroethylene polymer) replacing the top stopcock used in the conventional nitrometer. The volume of nitrogen in the nitrometer can be measured directly without a levelling operation and reduction to the volume under atmospheric pressure is carried out by using a correction curve. As the nitrometer is constructed without rubber tubing, many troubles caused by rubber tubing are removed.

Zusammenfassung

Ein verbessertes Azotometer für die Stickstoffbestimmung nach *Dumas* wurde beschrieben. An Stelle des Glashahnes ist es mit einem Ventil aus „Daiflone" (Difluoräthylen-Polymerisat) versehen. Das Stickstoffvolumen im Azotometer kann unmittelbar ohne Einstellung der Niveaugleichheit gemessen werden. Die Reduktion auf Atmosphärendruck wird mit Hilfe einer Korrekturkurve durchgeführt. Da das Azotometer keine Schlauchverbindung benötigt, sind dadurch bedingte Störungen vermieden.

Résumé

Description d'un azotomètre amélioré pour le dosage de l'azote d'après Dumas. L'azotomètre est pourvu d'une soupape en daiflone (polymère du difluoréthylène) qui remplace le robinet supérieur utilisé dans l'appareil habituel. Le volume de l'azote recueilli dans l'azotomètre peut être mesuré directement sans avoir à faire une opération de niveau et sans avoir à réduire le volume à la pression atmosphérique par l'emploi d'une courbe de correction. L'azotomètre étant construit sans tuyau de caoutchouc il en résulte que de nombreux inconvénients consécutifs à l'emploi de ce matériau sont éliminés.

Literature

[1] *C. Weygand*, Chem. Techn. **16**, 15 (1943).
[2] *A. Müller*, Mikrochem. **33**, 192 (1947).
[3] *E. Stehr*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 213.
[4] *K. Hozumi* and *S. Amako*, Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 230.

Aus dem Institut für organische und pharmazeutische Chemie der Universität Graz, Abteilung für Mikrochemie

Über eine Schnellmethode zur Stickstoffbestimmung

(Kurze Mitteilung)

Von

H. Trutnovsky

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 5. August 1959)

In letzter Zeit wurden einige Arbeiten über neue Ausführungsformen der Mikrostickstoffbestimmung nach *Dumas* veröffentlicht. Da aber sowohl die Methode von *Eder*[1] wie die von *Hozumi* und *Amako*[2] besondere Ofenkonstruktionen erfordern, soll hier über ein Verfahren berichtet werden, das mit allen normalen Verbrennungsautomaten ohne großen zusätzlichen Aufwand durchgeführt werden kann.

Die größte Gefahr für jede Schnellmethode zur Stickstoffbestimmung ist das Auftreten unvollständig verbrannter gasförmiger Zersetzungsprodukte im Azotometer. Dabei handelt es sich, wie *Kirsten*[3] feststellte, meistens um Methan. Besonders bei höherer Strömungsgeschwindigkeit verbrennt dieses an der üblichen Rohrfüllung nicht quantitativ. Zur vollständigen Verbrennung sind entweder eine sehr kleine Strömungsgeschwindigkeit *(Pregl*[4]*)*, Vorverbrennung und Verdünnung mit CO_2 *(Zimmermann*[5]*)*, extrem hohe Temperaturen *(Kirsten*[3]*)* oder Zusatz von Sauerstoff erforderlich *(Unterzaucher*[6]*)*. Darauf nehmen auch alle anderen Ausführungsformen in dieser oder jener Art Rücksicht.

Wird von einer Schnellmethode auch die Möglichkeit der Erkennung und Bestimmung anorganischen Rückstandes gefordert und soll sie ohne Spezialkonstruktionen durchführbar sein, so bleibt nur das Prinzip der Verbrennung unter Sauerstoffzugabe und Vermeidung irgendeines sonstigen Zusatzes zur Substanz im Schiffchen.

Leider weist das Originalverfahren *Unterzauchers* einige Nachteile auf. Die Apparatur ist ziemlich kompliziert und große Einwaagen stickstoffarmer Substanzen ($< 3\%$ N) können, besonders wenn sie einen harten,

koksartigen Rückstand geben, bei der niedrigen Sauerstoffkonzentration nur sehr langsam verbrannt werden.

Bei eigenen Versuchen zeigte sich, daß, wenn in *reiner Sauerstoffatmosphäre* gearbeitet wird, auch große Einwaagen schwer verbrennlicher Substanzen mit einem geringeren Anstieg des Druckes im Verbrennungsrohr als bei Verwendung eines Kohlendioxyd-Sauerstoff-Gemisches verbrennen. Wird noch eine „Saugschicht" nach *Haas* und *Rappaport*[7] zwischen Schiffchen und Langbrenner angeordnet, so gelangen auch in den ungünstigsten Fällen keine Fremdgase mehr in das Azotometer.

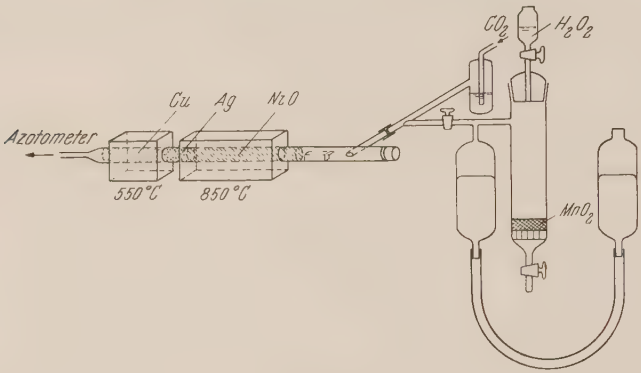


Abb. 1

Die Verbrennung in reinem Sauerstoff bewirkt im Vergleich zur Oxydation mit Kupferoxyd einen geringeren Anstieg der Strömungsgeschwindigkeit:

$$CH_2 \text{ (fl.)} + 3\,CuO = 3\,Cu + CO_2 + H_2O; \quad \text{Vol. Änd.: } + 2 \text{ Mole},$$

$$CH_2 \text{ (fl.)} + {}^3/_2\,O_2 = CO_2 + H_2O; \quad \text{Vol. Änd.: } + {}^1/_2 \text{ Mole}.$$

Die Annahme von $(CH_2)_n$ ist der ungünstigste mögliche Fall, bei wasserstoffärmeren Verbindungen liegen die Verhältnisse noch günstiger für die Verwendung von gasförmigem Sauerstoff. Dies und die Verwendung der Saugschicht, die eine gleichmäßigere Verbrennung von Flüssigkeitstropfen bewirkt, ermöglichen den Verzicht auf jede Drosselung des Gasstromes (Bremspfropf, Rillenhahn) zum Azotometer. Dadurch tritt nie ein Zurücksublimieren oder -destillieren von Substanz auf. Wird ein Kohlendioxyd-Sauerstoff-Gemisch verwendet, so besteht die Gefahr, daß bei plötzlich verbrennenden Substanzen doch ein Mangel an freiem Sauerstoff und damit ein Druckanstieg auftritt. Trotz der Verwendung von zirka 15 ml Sauerstoff für jede Analyse reicht eine 70 mm lange Kupferschicht am Rohrende für etwa 60 Analysen.

Beschreibung der Apparatur: Das Quarzverbrennungsrohr wird nach Abb. 1 gefüllt. Cu und NiO sind feinkörnig, Korngröße 0,5 bis 0,8 mm. Das Nickeloxyd ragt 20 mm über den Langbrenner hinaus. Der Sauerstoffgasometer (Fa. Haack, Wien) faßt zirka 25 ml.

Durchführung der Verbrennung: Die Substanz wird in einem Platinschiffchen unmittelbar an die Nickeloxydschicht gestellt. Der bewegliche Brenner wird 4 cm von der Substanz entfernt über das Verbrennungsrohr geschoben. Während das Rohr luftfrei gespült wird, füllt man den Sauerstoffgasometer durch Zersetzung einiger Tropfen Perhydrol an gekörntem Braunstein. Sobald das Rohr luftfrei ist, schließt man den Hahn am Kipp und öffnet den Hahn am Sauerstoffgasometer, so daß zirka 3 bis 4 ml Sauerstoff pro Minute durch das Verbrennungsrohr strömen. Der bewegliche Brenner wird unmittelbar an das Schiffchen und in 4 Minuten an den Langbrenner vorgeschoben. Dann wird der Sauerstoffstrom abgestellt und ein Kohlendioxydstrom von 4 Blasen/sek zum Spülen verwendet. Nach 1 Minute wird der bewegliche Brenner aufgeklappt und zurückgeschoben, nach etwa 5 Minuten ist der Stickstoff zur Gänze im Azotometer. Wenn ein geeigneter Wärmeschutzschirm verwendet wird (z. B. ein hinreichend großes Stück Wellpappe), kann das Azotometer sofort abgelesen werden. Vom abgelesenen Volumen werden 2% plus 0,003 ml abgezogen; die zusätzliche Korrektur entspricht dem im Perhydrol gelösten Luftstickstoff.

Diese Methode hat sich bei der Analyse zahlreicher Substanzen mit Stickstoffgehalten zwischen 2 und 30% seit über einem Jahr vorzüglich bewährt.

Literatur

[1] *K. Eder,* Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 631.
[2] *K. Hozumi* und *S. Amako,* Mikrochim. Acta [Wien] **1959**, 230.
[3] *W. Kirsten,* Mikrochem. **40**, 121 (1953).
[4] *F. Pregl,* Die quantitative organische Mikroanalyse. Berlin: J. Springer. 1917.
[5] *W. Zimmermann,* Mikrochem. **31**, 42 (1943).
[6] *J. Unterzaucher,* Chem. Ing. Techn. **22**, 128 (1950).
[7] *P. Haas* und *F. Rappaport,* Mikrochem. **7**, 327 (1929).

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften

Activities of the Metropolitan Microchemical Society of New York 1958—1959*

Officers of the Society for the 1958–59 season were: Chairman, Dr. *Herbert K. Alber*; Chairman-elect, Mr. *Grant M. Gustin*; Secretary, Mr. *Louis M. Brancone*; and Treasurer, Mr. *Joseph Grodsky*. Mrs. *Lucia Ermanis*, Chairman of the membership committee, reported that during the year 24 new members were elected to the Society. The constitution was amended to discontinue life membership of $ 25.00 and to increase the annual dues from $ 3.00 to $ 5.00.

At the first regular meeting of the year, the members of the Society were the guests of the Ortho Research Foundation and Ethicon Inc. at Sommerville, N. J. The program included a tour of the laboratories and a lecture entitled "On this Slender Thread" by Mr. *C. W. Norman* of the New Products Development Department of Ethicon Inc. His talk dealt with the newest developments in needles and sutures. The meeting was concluded by a dinner at the "Town and Country Inn" in Sommerville, N. J.

The next five meetings were held at the American Museum of Natural History in New York City. Dr. *Sidney Siggia*, Olin Matheson Co., New Haven, Conn., delivered a talk on "Functional Groups". He first defined the term and then described methods that are applicable. These included classical chemical methods as well as the newer instrumental methods of analysis.

Mr. *G. McClennan*, Corning Glass Works, Corning, N. Y., showed a motion picture "The Nature of Glass". He also demonstrated some of the properties of the new substance Pyroceram and passed samples around the room.

---

* Previous reports of the activities of this Society have been made by *L. K. Yanowski*, Chem. Eng. News **21**, 301 (1943); *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 112 (1948); *L. K. Yanowski* and *M. Cefola*, Mikrochem. **38**, 172 (1951); *L. K. Yanowski*, Mikrochem. **39**, 105 (1952); **40**, 285 (1953); Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1858; **1958**, 434; **1959**, 162.

A panel discussion on "Problems in Functional Group Analysis" was held, at which Dr. *T. S. Ma*, Brooklyn College, Brooklyn, N. Y., Dr. *Al Steyermark*, Hoffmann-La Roche, Nutley, N. J., and Mr. *Joseph Alicino*, Squibb Research Institute, New Brunswick, N. J., spoke on functional groups in general. They were followed by Dr. *Julius A. Kuck*, Miss *Patricia A. Lentz*, and Mrs. *Elizabeth C. Grim*, all from the American Cyanamid Co., Stamford, Conn., who presented some of their work as well as demonstrated some specialized pieces of apparatus. A lively discussion followed, after which Mr. *Louis M. Brancone*, American Cyanamid Co., Lederle Research Division, Pearl River, N. Y., concluded the program with a few general remarks on functional groups.

"Submicro Methods of Organic Analysis" was the topic of Dr. *R. Belcher*, University of Birmingham, England. The material he presented seems to point to a break-through toward the use of submicro or microgram samples in the field of organic microanalysis and promises to revolutionize this aspect of analytical chemistry. A balance suited for this work was exhibited after the meeting.

Dr. *R. G. Esposito*, American Cyanamid Co., Lederle Laboratories, Pearl River, N. Y., gave an interesting talk on "Microbiological Methods for Assay of Trace Metals". The speaker described experiments in which the presence of certain trace elements can be determined by the use of selected organisms. Specific examples were given to illustrate how organisms can be used to show the presence or absence of trace amounts of many elements.

The final meeting of the season, "Ladies Night", was held at Fordham University. The meeting was preceded by a mixer and dinner where the ladies were presented with door prizes. The speaker of the evening was Dr. *H. Donley* of the Radio Corporation of America Research Laboratories, Camden, N. J. He spoke about the R. C. A. Electronic Music Synthesizer and demonstrated how a complete electronic system could be used to produce music, tones of different instruments, and novelty effects.

The Fourteenth Annual Symposium was held on April 17th and 18th at the American Museum of Natural History. Mr. *Oliver Sundberg*, American Cyanamid Co., Bound Brook, N. J., chairman, and his Symposium Committee arranged for the presentation of the following papers: "Some Novel Approaches to the Design of Analytical Instrumentation", by Prof. *S. Z. Lewin*, New York University, N. Y.; "Photometric Titrations", by Prof. *Clark E. Bricker*, Princeton University, Princeton, N. J.; "Spectrofluorimetry", by Prof. *L. B. Rogers*, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass. This was followed by a social hour and dinner. The dinner address, "Chemistry on a Cosmic Scale", was given by Mr. *S. Gale*, American Cyanamid Co., Bound Brook, N. J.

The second day's session consisted of papers on the following topics: "Analytical Instrumentation in Food Research", by Dr. *J. C. Cavagnol*, General Foods, Tarrytown, N. Y.; "Coulometric Titrations", by Dr. *E. P. Przybylowicz*, Eastman Kodak Co., Rochester, N. Y.; "Automation in Analytical Chemistry", by Dr. *A. Ferrari*, Technicon Instruments Corp., Chauncey, N. Y.

The symposium was concluded with a round table discussion on the determination of nitrogen by the Dumas and Kjeldahl Methods. Dr. *Clyde L. Ogg*, U. S. Dept. of Agriculture, Eastern Utilization Research and Development Division, Philadelphia, Pa., presided as moderator, and the panel members were Mr. *Veto A. Aluise*, Hercules Powder Co., Hercules Research Center, Wilmington, Del., and Mr. *Ervin Stehr*, The Texas Co., Beacon, N. Y., who discussed the Dumas determinations. The third panel member was Mr. *Clyde W. Nash*, Rohm and Haas, Bristol, Pa., who discussed the Kjeldahl method. A lively audience participation followed.

A "gadget" exhibit was held during the entire symposium and all persons were invited to bring their gadgets for exhibit and demonstration.

Leo K. Yanowski
Fordham University
Historian, Metropolitan Microchemical Society

The Society for Analytical Chemistry

Ordinary Meeting of the Midlands Section

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Thursday, September 17th, 1959, in the Mason Theatre, The University, Edmund Street, Birmingham 3. The Chair was taken by the Vice-Chairman of the Section, Dr. *H. C. Smith*, F. R. I. C.

A discussion on: "Some Applications of E. D. T. A." was opened by: *T. S. West*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C. (Birmingham University); *J. Blenkin*, B. Sc. (Dunlop); and *C. A. Johnson*, B. Pharm., B. Sc., F. P. S., A. R. I. C. (Boots').

Dr. *West* discussed recent advances which had been made in the technique of complexometric analysis. The subject matter ranged over new complexones, indicators, methods of physico-chemical end-point detection, masking procedures, etc. Recent trends were examined and some comments made on possible developments in the near future.

Mr. *Blenkin* gave a brief description of the development of some methods incorporating E. D. T. A. titrimetry for the analysis of the ash from compounded rubber.

These methods had particular reference to:

(a) The determination of barium sulphate by solution in ammonium E. D. T. A. after pre-treatment of the sulphate.

(b) The determination of strontium in the presence of zinc, using differential p_H techniques and ion-exchange resins.

(c) The determination of iron, aluminium and magnesium in silicates after fusion in sodium hydroxide.

Mr. *Johnson* said that during the past few years E. D. T. A. had been used increasingly for routine analytical control in the pharmaceutical industry. Some of the types of problem occurring in this field were reviewed and a somewhate more detailed account was given of the analysis for aluminium. The use of complexometric methods for the determination of alkaloids and of sulphate were considered. Finally some attempt was made to assess the contribution which E. D. T. A. had so far made to routine control analysis.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the North of England and Scottish Sections of the Society for Analytical Chemistry, was held at 7.15 p. m. on Friday, September 25th, 1959, in the Central Hotel, Victoria Viaduct, Carlisle. The Chair was taken by the Chairman of the North of England Section, Dr. *J. R. Edisbury*.

The subject of the meeting was "Water: Determination and Examination" and the following papers were presented and discussed:

"Determination of Water", by *J. H. Thompson*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C. (Glaxo Laboratories Ltd., Greenford, Middlesex).

The direct determination of water is a familiar operation in analytical chemistry, not only because it is frequently necessary to know the moisture content of a sample under test, but also because it is often convenient to determine oxygen and hydrogen by converting these elements to water. Available methods were here reviewed briefly.

Investigators have studied applications of the determination to almost every branch of analytical chemistry; an arbitrary selection had been made with no attempt to consider the Karl Fischer reagent in any detail. It was impossible to take account of the many applications of this reagent, in the time available. Emphasis was placed on classical as distinct from modern instrumental procedures, although some mention of the latter was made.

"Water Analysis as a Guide to Potability", by *J. G. Sherratt*, B. Sc., F. R. I. C. (Ruddock & Sherratt, Warrington).

Bacteriological examination plays an essential part in the assessment of the suitability of water for drinking purposes but it can never replace chemical analysis. The older methods of analysis are still extensively used, but nowadays they can often be usefully supplemented by modern techniques involving flame photometry, spectrophotometry, and recently developed methods of trace analysis.

Examples of the use of some of these techniques were given.

"Determination of Radioactive Contaminants in Water", by *G. E. Eden*, B. Sc., A. R. I. C. (D. S. I. R., Water Pollution Laboratory, Stevenage, Herts.).

Natural waters are at present subject to radioactive pollution arising from natural radioelements, the fall-out from the testing of nuclear weapons, and from radioactive effluents. The analyst may be called upon to determine whether the appropriate maximum permissible level of activity has been

exceeded, or in some cases, to determine the concentration of individual radioelements or radioisotopes. Methods and equipment applicable to such determinations were described, together with some examples of results obtained in practice.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the Microchemistry Group of the Society for Analytical Chemistry, the Thames Valley Section of the Royal Institute of Chemistry, and the London Section of the Society of Chemical Industry was held at 6.30 p. m. on Friday, October 2nd, 1959, in the Inorganic Chemistry Lecture Theatre, University of Oxford. The Chair was taken by Dr. *F. M. Brewer*, M. B. E., F. R. I. C.

The following paper was presented and discussed:

"Quantitative Commonsense and the Chemist", by *Eric C. Wood*, B. Sc., Ph. D., A. R. C. S., F. R. I. C. (Clarence House, 6 Clarence Road, Norwich.)

The statistical approach to investigational problems was described with special reference to analytical work. The importance of knowing the variability of a quantity (preferably in terms of its standard error), as well as its mean value was stressed, and the conditions that must be observed if replicate observations are to give reliable estimates of both were stated and explained. The fundamental principles of experimental design were illustrated by reference to actual analytical procedures. Some fallacies, statistical and otherwise, that the author has encountered in his experience were discussed.

The meeting was preceded at 1.45 p. m. by a visit to the Chemistry Division of the Atomic Energy Research Establishment, Harwell.

Ordinary Meeting of the Society

An Ordinary Meeting of the Society was held at 7 p. m. on Wednesday, October 7th, 1959, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London, W. 1. The Chair was taken by the President, Mr. *R. C. Chirnside*, F. R. I. C.

The subject of the meeting was "Atmospheric Pollution Analysis", and the following papers were presented and discussed:

"Analytical Aspect of the Control of Industrial Atmospheric Contamination", by *J. C. Gage*, B. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (Imperial Chemical Industries Ltd., Industrial Hygiene Research Laboratories, The Frythe, Welwyn.).

The prevention of industrial diseases arising from the contamination of factory atmospheres requires that the concentration of noxious substances should be kept at a level which is authoritatively regarded as safe. The upper limits of these safe concentrations, or maximal allowable concentrations, are established by collaboration between toxicologists, clinicians and analysts. The proper design and functioning of industrial plant handling toxic substances should be regularly checked by means of atmospheric analysis. In the design and application of tests for this purpose it is desirable not only to consider the analytical problems, but also the nature of the potential hazard. The proper interpretation of the analytical results in relation to the maximal allowable concentration may require the co-operation of an industrial toxicologist.

"The Determination of Beryllium Metal in Air", by *R. J. Powell*, B. Sc., *P. J. Phennah* and *J. E. Still*, B. Sc., F. R. I. C. (Research Laboratories of the General Electric Co. Ltd., Wembley, and Atomic Energy Division, The General Electric Co. Ltd., Erith.).

There is an intense interest in the metal beryllium arising from its potential value in the future as a canning material in nuclear power reactors. Because of the known extremely toxic nature of this element special precautions are taken in handling the material even where the small quantities required for experimental and development work are involved.

The primary precaution depends on good ventilation of the working area. In order to check the effectiveness of the ventilation scheme methods for the determination of submicrogram quantities of beryllium are required.

Sampling is effected by drawing a known volume of air through a filter paper held in the head of a special air sampler. Samples are of three types; specific, background and environmental. The specific samples are taken from positions in the immediate vicinity of an operation involving the use of beryllium. A background sample is taken at the same time as specific samples at a distance of at least five feet from the operator towards the centre of the working area. Environmental samples are taken each day from the exhaust stack of the ventilation system.

The filter paper is removed from the sampler and placed in a cellulose envelope for transport to the laboratory. The envelope and paper are submitted to a wet oxidation process. Subsequently the beryllium is co-precipitated with calcium phosphate. This precipitate is redissolved in a small volume of acid and gold is added to act as an internal standard in the subsequent determination of the beryllium by spectrographic means. The porous cup technique is used and spark circuit conditions are chosen to give maximum sensitivity.

The method has been shown to be satisfactory over the range 0.015 μg to 50 μg Be/ml of the test solution.

A Hilger medium spectrograph is used with direct-reading attachment. The total time required for testing 20 samples is about $4^1/_2$ hours.

"The Determination of Atmospheric Polycyclic Hydrocarbons", by *B. T. Commins*, M. Sc., A. R. I. C. (Medical Research Council, Group for Research on Atmospheric Pollution, St. Bartholomew's Hospital, London E. C. 1).

Polycyclic aromatic hydrocarbons have been determined in the smoke collected from the general atmosphere in urban and rural areas of Great Britain and from the air in and around gasworks, road tunnels and certain garages.

The samples were collected on Whatman filter papers and glass fibre filters and extracted with purified cyclohexane. The cyclohexane extracts were separated chromatographically on alumina columns and the eluates from the column examined by ultra violet spectrophotometry. The polycyclic aromatic hydrocarbons were identified from the spectral data and the amounts of each determined by specially developed techniques.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the North of England Section and Physical Methods Group of the Society for Analytical Chemistry and the Modern Methods of Analysis Group of the Sheffield Metallurgical Association was held at 7 p. m.

on Tuesday, 13th October, 1959, in the Conference Room of the British Iron and Steel Research Association, Hoyle Street, Sheffield, 3. The Chair was taken by the Chairman of the Physical Methods Group, Mr. *R. A. C. Isbell*, A. Inst. P.

The subject of the meeting was "Modern Methods of Titration" and the following papers were presented and discussed:

"Coulometry in the Analysis of Metals", by *G. Mattock*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C. (Electronic Instruments Ltd.).

Coulometric analysis depends on the application of Faraday's Law that passage of 96,493 absolute coulombs liberate one gram-equivalent of ions or atoms at an electrode. Two types of process can be used;

(a) primary processes, where the ion or molecule reacts directly at the electrode (as in direct reduction of a metal ion at a cathode);

(b) secondary processes, where a reagent is generated at an electrode to react quantitatively (i. e. to titrate) with the substance of interest: these are important where the latter does not undergo direct electrode reaction, or where polymerisation may occur.

In either case, measurement of number of coulombs for completion of process gives the number of gram-equivalents of substance present, provided 100% current efficiency is maintained.

There are two methods of carrying out coulometric analyses: at controlled potential (primary process), where current is measured as a function of time, giving an exponential curve (area under which gives the number of coulombs), and by titration (secondary process). Only the latter was considered here.

There is no fundamentally new principle involved in the titration process, which in coulometry involves the electro-generation of titrant to the titration endpoint. The latter is identified potentiometrically, amperometrically or colorimetrically: the relative merits of these techniques were discussed. Types of titration can be as in ordinary volumetric practice, i. e. p_H, redox, complexometric, or precipitation: the only requirements being a suitable choice of titrating ion and, of course, full current efficiency. Certain outstanding advantages follow from the use of coulometry:

1. the high conversion factor from electrical to chemical units, coupled with the accuracy with which electrical measurements can be made, enable very low concentrations to be determined;

2. no reagent standardisation is required, and no storage problem for unstable titrants exists and

3. the scheme is readily adaptable to automatic operation.

The apparatus which has been used for secondary titrations often involves the passage of a constant current, with time measurement to give the coulombs; alternatively an integrating motor can be used which gives a direct coulomb measurement.

An automatic instrument, developed from one described by *L. G. Smythe* [Analyst, 82, 228 (1957)] will be discussed to illustrate the principles. This instrument uses an integrating motor with a dekatron display reading directly in micro-equivalents. Desirable features of cell design will also be indicated.

A number of exemplifying titrations of interest in metallurgical analysis were considered, including redox titration of metals (such as, e. g., electrogeneration of Fe^{2+} to determine Cr, V, or Mn, and electrogeneration of ferrocyanide to determine Zn), and generation of E. D. T. A. for titration of various metals, with potentiometric endpoint detection.

"High Frequency Titration", by *E. S. Lane*, B. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (U. K. A. E. A., Harwell).

The development of the technique of end-point detection by high frequency conductometric methods is described with particular emphasis on the types of apparatus available. The scope, limitations and accuracy of the method will be illustrated an some references made to potential developments in metallurgical analysis.

Ordinary Meeting of the Midlands Section

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Wednesday, October 14th, 1959, in the Technical College, The Butts, Coventry. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *S. H. Jenkins*, F. R. I. C., F. Inst. S. P.

The following paper was presented and discussed:

"The Analytical Chemistry of Tantalum and Niobium", by *A. R. Powell*, F. I. M., F. R. I. C., F. R. S. (Johnson, Matthey & Co. Ltd.).

After a short review of the chief analytical reactions of the metals their separation from low grade ores and from concentrates were described. A rapid method is available for obtaining an oxide mixture free from all metals except titanium and part of the tungsten. Tungsten is best separated by fusion with potassium carbonate and precipitation of the acid earths with magnesia mixture or sodium chloride. Titanium is removed chromatographically and the tantalum and niobium are separated by tannin, solvent extraction, or chromatography. The application of these methods to the analysis of ores and alloys was discussed and colorimetric procedures for the determination of small quantities of the metals were described.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the North of England Section and the Physical Methods Group of the Society for Analytical Chemistry and the Newcastle upon Tyne and North East Coast Section of the Royal Institute of Chemistry was held at 6.30 p. m. on Tuesday, October 27th, 1959, in the Chemistry Lecture Theatre 2, King's College, Newcastle upon Tyne, 1. The Chair was taken by the President of the Society for Analytical Chemistry, Mr. *R. C. Chirnside*, F. R. I. C.

The subject of the meeting was "X-Ray Fluorescence" and the following papers were presented and discussed:

"Instrumental Developments in X-ray Fluorescence Spectroscopy", by *J. R. Stansfield*, M. A., F. Inst. P. (Hilger & Watts Ltd.).

Instruments for analysis by X-ray fluorescence spectroscopy have been developed to a stage where they have become reliable tools for routine use. The various components of such instruments; X-ray tubes, crystal spectrometers, and detectors and measuring systems were discussed in relation to the performance of a complete equipment. Alternative forms were described including manual and fully automatic instruments.

"Some Applications of X-ray Spectrography", by *H. I. Shalgosky*, B. Sc., A. R. I. C. (U. K. A. E. A., Woolwich).

The extremely rapid determinations which are possible using X-ray spectrography, e. g. the determination of chromium, nickel, manganese

and titanium in stainless steels were compared with determinations made on samples having variable compositions, e. g. the determination of uranium in ores. The use of the technique for determinations at the p. p. m. level was also described.

The meeting was preceded at 2.30 p. m. by a visit to Winthrop Laboratories Ltd., Egdefield Avenue, Fawdon, Newcastle-on-Tyne, 3.

Ordinary Meeting of the Midlands Section

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Tuesday, October 27th, 1959, at the Nottingham and District Technical College, Burton Street, Nottingham. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *S. H. Jenkins*, F. R. I. C., F. Inst. S. P.

A Discussion on "The Purity of Analytical Reagents" was opened by *J. T. Yardley*, B. Sc., F. R. I. C. (Chief Analyst, Hopkin & Williams Ltd.).

The purity of available analytical reagents was discussed from several viewpoints and with special reference to the compilation of suitable purity specifications.

Prominent amongst the factors affecting the introduction of new specifications, and the revision of existing ones, is the increasing use of sensitive physical methods in certain specialised industries. From the suppliers' standpoint this situation poses many urgent problems other than purely preparative ones; most notably the packaging and storage of the reagents.

Highly specialised reagents, reference substances and volumetric standards promise to play increasingly important roles in the future and some typical examples were considered in detail.

Ordinary Meeting of the Scottish Section

An Ordinary Meeting of the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 5 p. m. on Friday, October 30th, 1959, in the Chemistry Department, Queen's College, Dundee. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *A. N. Harrow*, A. H.-W. C., F. R. I. C.

The following paper was presented and discussed:

"Complexones, With Special Reference to EDTA", by *H. J. Cluley*, M. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (Research Laboratories of the General Electric Co. Ltd., Wembley).

The nature of complexones and their metal-complexing properties were discussed with particular reference to the most widely used complexone, EDTA (ethylenediaminetetra-acetic acid).

The analytical uses of these metal-complexing reactions were described under three headings, 1. complexometric titration, i. e., the determination of a metal by titration with EDTA solution; 2. masking, i. e., improving the selectivity of an analytical reaction by complexing interfering metals; 3. use to modify redox potentials, chiefly in polarography.

Finally, in view of the prolific evolution of analytical methods using EDTA, an attempt was made to assess critically the value of EDTA as an analytical reagent.

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52